



**Bruno Miguel Garcia Barbosa**

Mestre em Energia e Bioenergia

## **Fitorremediação de solos contaminados com Zn e Cr utilizando *Arundo donax* L.**

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em  
Energia e Bioenergia

Orientadora: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,  
Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e  
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Doutor Jorge Joaquim Pamies Teixeira, Professor  
Catedrático da Faculdade de Ciências e Tecnologia da  
Universidade Nova de Lisboa

Arguentes: Doutora Maria Dolores Curt Fernández De La Mora,  
Professora Titular da Universidad Politécnica de Madrid,  
Espanha  
Doutor Fernando António Portela Sousa Castro,  
Professor Catedrático da Escola de Engenharia da  
Universidade do Minho

Vogais: Doutor Salvatore Luciano Cosentino, Professor  
Catedrático da Università degli Studi di Catania, Itália  
Doutora Elisabeth da Costa Neves Fernandes de Almeida  
Duarte, Professora Catedrática do Instituto Superior de  
Agronomia da Universidade de Lisboa  
Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando, Professora  
Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da  
Universidade Nova de Lisboa  
Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte,  
Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e  
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa



**Outubro de 2014**

**Bruno Miguel Garcia Barbosa**

**Fitorremediação de solos  
contaminados com Zn e Cr utilizando  
*Arundo donax* L.**

Dissertação para obtenção do Grau de Doutor em  
Energia e Bioenergia

Orientadora: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,  
Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e  
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Doutor Jorge Joaquim Pamies Teixeira, Professor  
Catedrático da Faculdade de Ciências e Tecnologia da  
Universidade Nova de Lisboa

Arguentes: Doutora Maria Dolores Curt Fernández De La Mora,  
Professora Titular da Universidad Politécnica de Madrid,  
Espanha  
Doutor Fernando António Portela Sousa Castro,  
Professor Catedrático da Escola de Engenharia da  
Universidade do Minho

Vogais: Doutor Salvatore Luciano Cosentino, Professor  
Catedrático da Università degli Studi di Catania, Itália  
Doutora Elisabeth da Costa Neves Fernandes de Almeida  
Duarte, Professora Catedrática do Instituto Superior de  
Agronomia da Universidade de Lisboa  
Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando, Professora  
Auxiliar da Faculdade de Ciências e Tecnologia da  
Universidade Nova de Lisboa  
Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte,  
Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências e  
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa



**Outubro de 2014**

“Fitorremediação de solos contaminados com Zn e Cr utilizando *Arundo donax* L.” © Bruno Miguel Garcia Barbosa, FCT/UNL, UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta tese de doutoramento através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## **Dedicatória e Agradecimentos**

Em primeira instância agradeço à Professora Doutora Ana Luísa Fernando, que de todas as pessoas que participaram nesta etapa da minha vida, foi aquela que verdadeiramente possibilitou todo o trabalho. Agradeço-lhe pelo seu trabalho como minha orientadora, em todas as etapas da tese. As horas e horas de laboratório e de muitas análises sob a sua orientação possibilitaram a aprendizagem e aprimoramento de muitas técnicas e conhecimentos que diariamente foram dando corpo à tese. Agradeço-lhe pela bolsa e integração nos seus projectos, por possibilitarem a tese, também no aspecto financeiro, que no caso particular da minha vida era determinante, mas também pelas oportunidades de participação em congressos internacionais, nos quais pude conhecer de perto e mais a fundo outras maneiras de pensar o meu trabalho. Agradeço-lhe ainda pela possibilidade de trabalhar com fitorremediação, uma linha de investigação que preenche os meus interesses profissionais. Por fim, agradeço-lhe pelo seu carácter e relação que sempre mantivemos, não só nesta tese, mas também na de mestrado. Sabe que sempre terá o meu mais profundo reconhecimento e amizade. Muito obrigado!

À coordenadora do Programa Doutoral em Energia e Bioenergia, a Professora Doutora Benilde Mendes, pelo apoio em diferentes fases do meu trabalho, pelo esforço efectuado para que conseguisse a bolsa, pelos bons conselhos e pelo apoio que sempre demonstrou durante o meu trabalho. Obrigado pela força e energia que sempre me transmitiu, obrigado pelas palavras que sempre me deu, de forma gratuita, levantando-me a moral, nos momentos mais complicados. Muito obrigado pela oportunidade de poder trabalhar na área que gosto e com as pessoas que gosto. Obrigado pelo seu trabalho e apoio!

À Professora Doutora Paula Duarte, pelo apoio prestado em diferentes fases do meu trabalho, pelos conselhos e palavras que prontamente me deu em momentos complicados. Agradeço-lhe profundamente por todos esses momentos. Agradeço-lhe pela ajuda prestada na elaboração das análises de Microtox. Muito obrigado por tudo!

Aos restantes professores do Programa Doutoral em Energia e Bioenergia, que de um modo mais ou menos directo sempre contribuíram para o enriquecimento da minha formação. Agradeço ao Professor Nuno Lapa pela amizade, pelo seu carácter e ainda pelo seu apoio em muitos momentos deste percurso. Obrigado a todos!

Agradeço à Dona Rita e à Dona Rosa, duas das pessoas mais importantes em todo o percurso do meu trabalho laboratorial. Agradeço-lhes pelos bons momentos que passamos, pela intensa ajuda depositada nas mais diversas análises, também pelas palavras sábias que me souberam

dizer em diversos momentos, pela vossa amizade e compreensão! Deixam-me muitas saudades! Obrigado por tudo o que vivemos e obrigado pelo vosso trabalho!

Ao Jorge Costa, meu colega de doutoramento e amigo, pelas horas e horas em que discutimos todos os pormenores possíveis de ambos os trabalhos, pelo tempo de trabalho conjunto no laboratório, pelas conversas sob os mais variados temas à hora de almoço, pela amizade e pela vontade que sempre demonstrou de chegar um pouco mais adiante em cada questão que se foi levantando. Muito obrigado, foi graças a esse teu esforço e dedicação a estes dois trabalhos que muitas das questões levantadas puderam ser resolvidas! Obrigado por tudo!

Ao João Lino, meu colega e amigo, companheiro no laboratório e na Sicília. Muito obrigado pelo teu esforço, ajuda e amizade em muitos momentos deste trabalho! Desejo-te a maior sorte.

À Sarah Sidella, colega e grande amiga, pelas horas e horas de trabalho conjunto no laboratório, por todos os bons momentos que passamos, pela tua ajuda em tantos momentos de ambos os trabalhos, pelo teu espírito bem-disposto, pelas vivências que qualquer boa amizade consegue sempre proporcionar! Obrigado pela ajuda que sempre me deste com a língua italiana e desculpa por não te ter ensinado a língua portuguesa! Obrigado pelo tempo que estiveste em Portugal, mas também pela ajuda na Sicília! Muito obrigado e um sempre até breve! Grazzie Mille!

Ao Andréa Nocentini, à Jacqueline e à Clara, pelo tempo juntos, pela amizade!

A todos os colegas que de um modo geral me ajudaram no laboratório em diferentes etapas do trabalho: ao Rúben, à Mariana e à Raquel, muito obrigado!

À Vanessa Bandarra e à Sara Boléo, pelas horas e horas do vosso árduo esforço, de todos os momentos que fomos vivendo em conjunto, as vossas palavras e os vossos empenhos, pelo tempo que a mim dedicaram, a força que me deram! Muito obrigado!

Ao conjunto de professores do centro de explicações Teen Academy de Almada, colegas de trabalho, no decorrer do meu primeiro ano de doutoramento, pela oportunidade e confiança que sempre depositaram em mim, é também graças ao vosso apoio e compreensão, e não somente pela minha vontade, que o meu percurso no doutoramento chegou a este ponto. À Sónia Almeida, à Marisa Garrido, à Vanessa, obrigado a todos!

Agradeço também aos restantes colegas do doutoramento que sempre me apoiaram, pela paciência, pela amizade e pela relação que mantivemos.

Aos meus amigos de sempre que nunca me deixam esmorecer. Em particular ao Miguel Duarte e ao Daniel Fonseca!

À Marinete Souza, que sempre me apoiou desde os meus tempos de licenciatura, que me incentivou quer a fazer o mestrado quer o doutoramento, que sempre quis ver-me melhor em tudo o que fiz, pelo teu carinho e dedicação, pela tua pessoa, por tudo o que vivemos. Muito obrigado!

Aos meus colegas do período Erasmus em Catânia: Nuno Carvalho, Asghar, Tobías, Marek, Vladimir e Steph Franco. Obrigado por todos os momentos inesquecíveis!

À minha namorada, Alicja Pielka, por todos os momentos que vivemos, pelo teu carinho e dedicação, pelo teu amor, apoio, e pelas tuas palavras, por tudo que sonhamos! Muito obrigado! Dziękuję bardzo!

Por último, mas não por ordem de importância, à minha família! Aos meus pais, pelo suporte, compreensão e amizade dedicados em toda a minha vida e em todas as fases críticas que vivi no período em que fiz o mestrado mas também no início do período de doutoramento. Não só vos agradeço por tudo que fizestes por mim, por tudo o que acreditastes e sonhastes comigo, como também vos devo uma homenagem neste trabalho. Aos meus avós, pelas mesmas razões, vos presto homenagem e vos guardo a vossa saudosa memória. Ao meu avô Miguel, que continua firme depois de uma longa e árdua caminhada, pelo seu exemplo construo a minha força no que faço na vida. A oportunidade e apoio que todos me destes, merecem todo o meu carinho, dedicação e agradecimento, não só a vós, mas também ao resto da família, que nas diferentes fases deste percurso me soubestes ajudar.

Aos meus irmãos José Emanuel e Maria Helena que sempre me apoiaram em tudo o que fiz, vos agradeço pela compreensão que tivestes, pois o tempo que investi neste e noutros projectos foi também o tempo em que não estive presente. Sabeis que vos sinto sempre. Aos meus sobrinhos Diogo e Tiago, pelas alegrias que trouxestes à família.

A todos os restantes que não pude referir, mas que foram importantes.

## Resumo

O presente trabalho explora as potencialidades da espécie *Arundo donax* L. na fitorremediação de solos artificialmente contaminados com Zn (450/900 mg.kg<sup>-1</sup>, ms) ou Cr (300/600 mg.kg<sup>-1</sup>, ms), perante diferentes disponibilidades hídricas (950, 475 e 238 mm), numa abordagem que tenta aliar: a) as vantagens da tecnologia de fitorremediação na descontaminação de solos contaminados com metais pesados; b) à redução dos riscos para o Homem, animais e ambiente por eles colocados; e c) à possibilidade de produção de biomassa para a produção de bioenergia, fibra e outros bioprodutos. Assim, o principal objectivo foi o de estudar os efeitos de solos contaminados com Cr ou Zn na produtividade e qualidade da biomassa de *Arundo donax*, bem como avaliar a capacidade de fitorremediação desta cultura energética em extrair aqueles metais dos solos. Este ensaio foi realizado em vasos, em condições controladas, com diferentes regimes hídricos e com a duração de dois ciclos vegetativos. Verifica-se que são sobretudo as diferentes disponibilidades hídricas, e não os tratamentos com Zn ou Cr que influenciam os parâmetros biométricos e de produtividade de *A. donax* L., uma planta que se comporta sobretudo como tolerante à presença de ambos os metais. Maiores volumes hídricos proporcionaram uma elevada absorção de elementos como o Zn e Cr na biomassa (fitoextração), assim como um índice de área foliar superior, conduzindo ao aumento da actividade fotossintética, e à acumulação de biomassa nas diferentes estruturas das plantas. Verifica-se um efeito positivo do fornecimento de maiores volumes de água no sucesso de fitorremediação de Zn e Cr. No entanto, a produção de *Arundo* nestes solos contaminados induz o aumento do teor de cinzas na biomassa, facto que pode comprometer o seu uso para fins de produção de bioenergia, por combustão. Os rizomas são a fracção que mais Zn e Cr acumularam, não se tendo verificado uma translocação elevada da parte radicular para a parte aérea. Em relação à contaminação com Zn, verifica-se que as plantas conseguem remover no máximo 0.4% da fracção total de Zn no solo, mas se considerarmos a fracção biodisponível, a planta (parte aérea) consegue remover no máximo 2%. Em relação à contaminação com Cr, as percentagens de remoção são equivalentes, um máximo de cerca de 0.3% da fracção total de Cr do solo, máximo de 1.2% da fracção biodisponível pela parte aérea. Estes resultados mostram a limitação da aplicação desta tecnologia, uma vez que exige períodos de tempo longos para a remoção da contaminação. Contudo, a presença e o crescimento do *Arundo* neste tipo de solos apresenta vantagens do ponto de vista ambiental, ao nível do sequestro de carbono e melhoria das funções do solo. A biomassa pode ainda ser valorizada para produção de energia ou biomateriais, acrescentando valor económico ao processo. Além disso, a produção de *Arundo* em solos marginais, como os contaminados com Zn ou Cr, libertam os solos de melhor qualidade para a produção de alimentos, reduzindo os conflitos associados com esta questão.

**Palavras-chave:** *Arundo donax* L.; Solos contaminados; Metais pesados; Zinco; Crómio; Fitorremediação; Produção de bioenergia.



## Abstract

This work explores the potentialities of *Arundo donax* L. in the phytoremediation of artificially contaminated soils with Zn (450 and 900 mg.kg<sup>-1</sup>, dry matter) and Cr (300 and 600 mg.kg<sup>-1</sup>, dry matter) at different water supplies (950, 475 and 238 mm), an approach that tries to combine: a) the advantages of phytoremediation technology in the decontamination of soils contaminated with heavy metals; b) the reduction of risks to humans, animals and the environment posed by them; c) the possibility of production of biomass for bioenergy production, fiber and other bioproducts. Thus, the main objective was to study the effects of soils contaminated with Cr or Zn on yield and quality of *Arundo donax* L. biomass, as well as evaluating the phytoremediation capacity of this energy crop in extracting those metals from soils. This trial was conducted in pots, under controlled conditions, with different water supplies and lasted two growing cycles. It appears that it is mainly the different water supplies, and not the treatments with Zn or Cr that influence the biometric parameters and productivity of *A. donax* L., a plant that behaves as tolerant to both metals. Higher water supplies provided a higher absorption of elements such as Zn and Cr in the biomass (phytoextraction) as well as a higher leaf area index, leading to the increase of photosynthetic activity and biomass accumulation in the different structures of plants. There is a positive effect of providing higher volumes of water in the success of phytoremediation of Zn and Cr. However, the production of *Arundo* in contaminated soils induces higher ash content in the biomass, which might compromise its use for bioenergy production by combustion. Plants accumulate more Zn or Cr in their rhizomes, and a limited translocation of both metals to the aerial fraction was observed. In terms of the Zn contamination, the plants were able to remove a maximum of 0.4% of the total Zn in soil, but if we consider the bioavailable fraction, then, the aerial fraction is able to remove a maximum of 2%. In terms of the Cr contamination, the removal percentages are equivalent, a maximum of 0.3% from the total Cr in soil, and a maximum of 1.2% from the bioavailable fraction by the aerial fraction. Those results show the constraints associated with the application of this technology, once it demands long periods of time for the contamination removal. However, the presence and growth of *Arundo* in this type of soils has advantages from an environmental point of view, in terms of carbon sequestration and improvement of soil functions. Biomass can also be exploited for energy production or biomaterials, adding economic value to the process. Furthermore, the production of *Arundo* in marginal soils, such as soils contaminated with Zn or Cr, release soil of better quality for food production, reducing conflicts associated with this issue.

**Keywords:** *Arundo donax* L.; Contaminated soils; Heavy metals; Zinc; Chromium; Phytoremediation; Bioenergy production.

# ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTOS .....	IV
RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS .....	XX
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. CONTAMINAÇÃO DE SOLOS COM METAIS PESADOS.....</b>	<b>6</b>
2.1. METAIS PESADOS: DEFINIÇÃO E TEORES NOS SOLOS .....	8
2.2. DISSEMINAÇÃO DOS METAIS PESADOS NA ECOSFERA: RISCOS AMBIENTAIS E SANITÁRIOS .....	11
2.3. FACTORES QUE CONDICIONAM A MOBILIDADE DOS METAIS PESADOS NOS SOLOS .....	16
2.3.1. <i>Factores no solo que condicionam a mobilidade do zinco (Zn)</i> .....	17
2.3.1. <i>Factores no solo que condicionam a mobilidade do crómio (Cr)</i> .....	19
<b>3.FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM METAIS PESADOS UTILIZANDO CULTURAS ENERGÉTICAS.....</b>	<b>22</b>
3.1. A TECNOLOGIA DE FITORREMEDIAÇÃO: CARACTERÍSTICAS DAS PLANTAS HIPERACUMULADORAS DE METAIS .....	23
3.2. CULTURAS ENERGÉTICAS UTILIZADAS NA FITORREMEDIAÇÃO – PRINCIPAIS MECANISMOS E RESULTADOS .....	26
3.2.1. <i>Mecanismos que conduzem à acumulação de metais pesados na biomassa vegetal</i> .....	27
3.2.2. <i>Mecanismos que conduzem à imobilização de metais pesados na biomassa vegetal</i> .....	30
3.2.3. <i>Mecanismos que conduzem à dissipação de metais pesados na biomassa vegetal</i> .....	32
3.3. TECNOLOGIAS UTILIZADAS NA VALORIZAÇÃO DA BIOMASSA CONTAMINADA COM METAIS PESADOS.....	36
<b>4. CARACTERIZAÇÃO DA PLANTA ARUNDO DONAX L. ....</b>	<b>38</b>
4.1. ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA ACTUAL .....	38
4.2. BIOLOGIA E MORFOLOGIA .....	39
4.3. FACTORES EDAFO-CLIMÁTICOS E EXIGÊNCIAS ECOLÓGICAS.....	40
4.4. CULTIVO E PROPAGAÇÃO.....	41
4.5. RESISTÊNCIA A PRAGAS.....	42
4.6. PRODUTIVIDADES .....	43
4.7. PROCESSAMENTO .....	43
4.8. CARACTERÍSTICAS DA BIOMASSA .....	44
4.9. UTILIZAÇÃO DA BIOMASSA .....	46
4.10. ARUNDO DONAX L., UMA PLANTA COM POTENCIAL INVASOR: ESTRATÉGIA DE CONTROLO .....	46
4.11. FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM METAIS PESADOS UTILIZANDO ARUNDO DONAX L.....	49
<b>5. DESCRIÇÃO DOS ENSAIOS, MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>51</b>
5.1. MÉTODOS.....	53
5.1.1. <i>Metodologias aplicadas às lamas residuais industriais.</i> .....	53
5.1.2. <i>Metodologias analíticas aplicadas aos solos.</i> .....	56
5.1.3. <i>Metodologias analíticas aplicadas às plantas.</i> .....	59
5.1.4. <i>Metodologias analíticas aplicadas à água utilizada na irrigação e aos percolados.</i> .....	61

5.2. MONTAGEM DOS ENSAIOS .....	62
5.3. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS.....	66
<b>6. RESULTADOS OBTIDOS E SUA DISCUSSÃO .....</b>	<b>67</b>
6.1 CARACTERIZAÇÃO DAS LAMAS RESIDUAIS INDUSTRIAIS DA CIRVER-SISAV (CHAMUSCA) .....	67
6.2 CARACTERIZAÇÃO DAS LAMAS RESIDUAIS INDUSTRIAIS DO CTIC (ALCANENA) .....	68
6.3 ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOMÉTRICOS E DE PRODUTIVIDADE DA ESPÉCIE <i>ARUNDO DONAX L.</i> .....	69
6.3.1 <i>Análise dos parâmetros biométricos</i> .....	69
6.3.1.1 Número de caules por vaso .....	69
6.3.1.2 Altura das plantas .....	71
6.3.1.3 Diâmetro basal dos caules .....	74
6.3.1.4 Número de nós dos caules .....	77
6.3.1.5 Distância de entrenós dos caules .....	79
6.3.1.6 Número de folhas .....	81
6.3.1.7 Índice de área foliar .....	83
6.3.1.8 Comprimento das maiores raízes .....	86
6.3.2 <i>Análise das produtividades</i> .....	87
6.3.2.1 Produtividade dos caules .....	88
6.3.2.2 Produtividade das folhas .....	91
6.3.2.3 Massa da manta morta .....	95
6.3.2.4 Produtividade da <i>biomassa não-Arundo</i> (BNA) .....	98
6.3.2.5 Produtividade das raízes .....	101
6.3.2.6 Produtividade dos rizomas .....	103
6.3.2.7 <i>Análise das produtividades aéreas e subterrâneas</i> .....	106
6.4 ANÁLISE DA QUALIDADE DA BIOMASSA DE <i>A. DONAX L.</i> .....	111
6.4.1 <i>Teor de cinzas da biomassa na experiência de zinco</i> .....	111
6.4.2 <i>Teor de cinzas da biomassa na experiência de crômio</i> .....	115
6.4.3 <i>Teores de zinco na biomassa</i> .....	117
6.4.4 <i>Teores de crômio na biomassa</i> .....	123
6.4.5 <i>Absorção de outros elementos na biomassa de Arundo donax L.</i> .....	127
6.4.5.1 <i>Experiência de zinco</i> .....	127
6.4.5.1 <i>Experiência de crômio</i> .....	130
6.4.6 <i>Teores de celulose, lenhina e hemicelulose na biomassa</i> .....	132
6.5 ANÁLISE DA QUALIDADE DOS SOLOS .....	134
<i>No final do ensaio, em Janeiro de 2014, realizaram-se análises aos solos para verificar a influência da contaminação e das relações solo-planta.</i> .....	134
6.5.1 <i>Caracterização físico-química dos solos</i> .....	135
6.5.2 <i>Teores de zinco no solo</i> .....	136
6.5.3 <i>Teores de crômio no solo</i> .....	139
6.6 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁGUAS DE IRRIGAÇÃO E DE PERCOLAÇÃO .....	143
6.6.1 <i>Concentração de zinco (Zn) nas águas de percolação</i> .....	144
6.6.2 <i>Concentração de crômio (Cr) nas águas de percolação</i> .....	146
6.7 RESULTADOS DA FITORREMEDIAÇÃO .....	147
6.7.1 <i>Fitorremediação de zinco</i> .....	148
6.7.2 <i>Fitorremediação de crômio</i> .....	152
6.8 AVALIAÇÃO DO IMPACTE ASSOCIADO À PRODUÇÃO DE <i>A. DONAX L.</i> EM SOLOS CONTAMINADOS COM ZN/CR .....	158
6.8.1 <i>Balanco energético</i> .....	158
6.8.2 <i>Sequestro de carbono da atmosfera</i> .....	160
6.8.3 <i>Redução de emissões de dióxido de carbono</i> .....	161
6.8.4 <i>Redução de emissões de outros gases</i> .....	163

6.8.5 Avaliação global do impacto da produção de <i>A. donax</i> L. em solos contaminados com Zn ou Cr.....	165
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>168</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>172</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1:</b> Factores e processos de formação do solo e respectiva interacção ao longo do tempo (Adaptado de Coleman, 2001). A azul estão representados os factores e a vermelho os processos que conduzem à formação de um solo. ....	6
<b>Figura 2.2</b> – Perfil do solo (Adaptado de Fernando, 2005; Nature.com, 2014). ....	7
<b>Figura 2.3</b> – Teores naturais ( <i>background levels</i> ) médios de diferentes metais na crosta terrestre e nos solos ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ), numa base global (Adaptado de Kabata-Pendias, 2011). ....	9
<b>Figura 2.4:</b> Áreas contaminadas com Cr (à esquerda) e Zn (à direita) ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) na União Europeia ( <a href="http://eussoils.jrc.ec.europa.eu/foregshmc/">http://eussoils.jrc.ec.europa.eu/foregshmc/</a> ). ....	15
<b>Figura 3.1:</b> Aplicação da tecnologia de fitorremediação utilizando culturas energéticas e respectivos mecanismos na descontaminação de solos contaminados e produção de biomassa para vários fins (Adaptado de EPA, 2000 e Fernando, 2005). ....	26
<b>Figura 3.2:</b> Mecanismo de fitoextração. Adaptado de EPA (2000) e Andrade <i>et al</i> (2007). ....	28
<b>Figura 3.3:</b> Mecanismo de fitoestabilização. Adaptado de EPA (2000) e Andrade <i>et al</i> (2007). ....	31
<b>Figura 3.4:</b> Mecanismo de fitovolatilização, em corpos de água contaminados (à esquerda) e em solos contaminados. Adaptado de EPA (2000) e Andrade <i>et al</i> (2007). Nota: C' representa o contaminante volátil. ....	33
<b>Figura 3.5:</b> Mecanismos de fitodegradação e rizodegradação. Adaptado de EPA (2000); Andrade <i>et al</i> (2007); Fernando (2005). ....	34
<b>Figura 4.1:</b> Distribuição global actual da espécie <i>Arundo donax</i> L. (à esquerda) (Cosentino, 2014) e mapa de adequabilidade climática para a espécie, de acordo com o modelo ecoclimático CLIMEX, onde: em cinzento estão representadas as áreas desfavoráveis; em verde-claro, as áreas propícias ao desenvolvimento da espécie; em verde-escuro, as favoráveis; e em azul, as muito favoráveis (Berney e DiTomaso, 2011). ....	38
<b>Figura 4.2:</b> Aspecto geral das folhas (à esquerda) (ivasoras.uc.pt) e componente aérea (dossel) de <i>Arundo donax</i> L. (Odero <i>et al.</i> , 2011). ....	40
<b>Figura 4.3:</b> Componentes da planta. Da esquerda para a direita, estão representadas imagens dos rizomas (Odero <i>et al.</i> , 2011), caules (Odero <i>et al.</i> , 2011), inflorescência ( <a href="http://www.discoverlife.org">www.discoverlife.org</a> ), e as sementes (Cosentino, 2014) de <i>Arundo donax</i> L. ....	40
<b>Figura 4.4:</b> Rizoma e modelo de propagação do rizoma de <i>Arundo donax</i> L. O desenvolvimento dos brotos principais (1) ocorre na primavera; os secundários (2) no verão; e, os gomos de extensão (3); ocorre em rizomas já desenvolvidos, também no verão (Cosentino, 2014). ....	41
<b>Figura 4.5:</b> Pragas do <i>Arundo donax</i> L. À esquerda <i>Tetramesa romana</i> (Center for Invasive Species Research, 2014); ao centro e à direita, <i>Sesamia</i> spp. ( <a href="http://keys.lucidcentral.org/">http://keys.lucidcentral.org/</a> ). ....	43
<b>Figura 4.6:</b> Colheita (Vídeo, <a href="http://www.youtube.com">www.youtube.com</a> ) e processamento ( <a href="http://www.eenews.net">http://www.eenews.net</a> ) de <i>Arundo donax</i> L. ....	44
<b>Figura 4.7:</b> Utilização do caule de <i>A. donax</i> L.: A – Cana-de-pesca; B – Estacas para plantas; C – Palhetas para instrumentos de sopro; D – Colmo em telhados (Pilu <i>et al.</i> , 2012). ....	46
<b>Figura 4.8:</b> Foto aérea oblíqua mostrando os padrões de propagação da invasão de <i>A. donax</i> L. (à esquerda) e preparação do tratamento com aplicação de herbicidas na Califórnia (à direita) (California Invasive Plant Council, 2011). ....	47
<b>Figura 5.1</b> – Vista aérea das instalações da FCT-UNL, do Edifício Departamental onde se localiza a varanda onde foram montados os ensaios, dos locais de recolha dos rizomas e do local de recolha dos solos. ....	63
<b>Figura 5.2</b> – Esquema simplificado da montagem dos ensaios. ....	65
<b>Figura 5.3</b> – Ensaios em diferentes fases do ciclo vegetativo da planta. À esquerda os brotos no início do ciclo vegetativo (Maio, 2012), e à direita, em Setembro de 2012. ....	65
<b>Figura 6.1:</b> Número de caules por vaso na experiência de Zn. ....	70
<b>Figura 6.2:</b> Número de caules por vaso na experiência de Cr. ....	70
<b>Figura 6.3:</b> Altura média das plantas na experiência de Zn. ....	72
<b>Figura 6.4:</b> Altura média das plantas na experiência de Cr. ....	73
<b>Figura 6.5:</b> Diâmetro médio das plantas na experiência de Zn. ....	75
<b>Figura 6.6:</b> Diâmetro médio das plantas na experiência de Cr. ....	76
<b>Figura 6.7:</b> Nº de nós médio dos caules na experiência de Zn. ....	77
<b>Figura 6.8:</b> Nº de nós médio dos caules na experiência de Cr. ....	78

<b>Figura 6.9:</b> Distância média de entrenós na experiência de Zn. ....	79
<b>Figura 6.10:</b> Distância média de entrenós na experiência de Cr. ....	80
<b>Figura 6.11:</b> Número médio de folhas registadas por vaso para a experiência de Zn. ....	81
<b>Figura 6.12:</b> Número médio de folhas registadas por vaso para a experiência de Cr. ....	82
<b>Figura 6.13:</b> LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) registados na experiência de Zn. ....	83
<b>Figura 6.14:</b> LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) registados na experiência de Cr. ....	85
<b>Figura 6.15:</b> Comprimento da maior raiz (cm) registados na experiência de Zn. ....	86
<b>Figura 6.17:</b> Produtividade dos caules ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registados na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	88
<b>Figura 6.18:</b> Produtividade dos caules ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registados na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	89
<b>Figura 6.19:</b> Correlação entre as produtividades dos caules (2º ano) com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr. ....	91
<b>Figura 6.20:</b> Produtividade das folhas ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registados na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	92
<b>Figura 6.21:</b> Produtividade das folhas ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registados na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	93
<b>Figura 6.22:</b> Correlação entre as produtividades das folhas (2º ano) com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr. ....	94
<b>Figura 6.23:</b> Manta Morta ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	96
<b>Figura 6.24:</b> Manta Morta ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	97
<b>Figura 6.25:</b> Produtividade da Biomassa Não Arundo ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	99
<b>Figura 6.26:</b> Produtividade da Biomassa Não Arundo ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Cr. ....	100
<b>Figura 6.27:</b> Produtividade das raízes ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	101
<b>Figura 6.28:</b> Produtividade das raízes ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	102
<b>Figura 6.29:</b> Correlação entre as produtividades das raízes com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr. ....	103
<b>Figura 6.30:</b> Produtividade dos rizomas ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	104
<b>Figura 6.32:</b> Correlação entre as produtividades dos rizomas com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr. ....	106
<b>Figura 6.33:</b> Produtividade global ( $\text{g.m}^{-2}$ )(2º ano) e proporções entre as produtividades de cada fracção da biomassa de <i>A. donax</i> L. registadas na experiência de Zn. ....	108
<b>Figura 6.34:</b> Produtividade global ( $\text{g.m}^{-2}$ )(2º ano) e proporções entre as produtividades de cada fracção da biomassa de <i>A. donax</i> L. registadas na experiência de Cr. ....	108
<b>Figura 6.35:</b> Correlação entre as produtividades globais (aérea e radicular)(2º ano) da biomassa de <i>Arundo donax</i> L. e os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr. ....	110
<b>Figura 6.36:</b> Teor de cinzas nos caules (%; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). ....	112

<b>Figura 6.37:</b> Teor de cinzas nas folhas (%; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	113
<b>Figura 6.38:</b> Teor de cinzas nas raízes (%; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	115
<b>Figura 6.39:</b> Teor de cinzas nos caules (%; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	116
<b>Figura 6.40:</b> Teor de zinco nos caules ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	119
<b>Figura 6.41:</b> Teor de zinco nas folhas ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	120
<b>Figura 6.42:</b> Teor de zinco nas raízes ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	121
<b>Figura 6.43:</b> Teor de zinco dos rizomas ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	122
<b>Figura 6.45:</b> Teor de crómio nos caules ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	124
<b>Figura 6.45:</b> Teor de crómio nas folhas ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	125
<b>Figura 6.46:</b> Teor de crómio nas raízes ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	126
<b>Figura 6.48:</b> Teor de celulose, lenhina, hemicelulose e fibra total (%) na biomassa de <i>A. donax</i> L. na experiência de zinco. ....	132
<b>Figura 6.49:</b> Teor de celulose, lenhina, hemicelulose e fibra total (%) na biomassa de <i>A. donax</i> L. na experiência de crómio. ....	133
<b>Figura 6.51:</b> Teor total de zinco ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	136
<b>Figura 6.52:</b> Fracção móvel de zinco ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	137
<b>Figura 6.53:</b> Fracção biodisponível de zinco ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	137
<b>Figura 6.54:</b> Teor total de crómio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	140
<b>Figura 6.55:</b> Fracção móvel de crómio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	140
<b>Figura 6.56:</b> Fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ). .....	141
<b>Figura 6.57:</b> Evolução das perdas de Zn ( $\text{mg.dm}^{-3}$ ) por percolação registada ao longo do tempo dos ensaios (meses). ....	145
<b>Figura 6.58:</b> Evolução das perdas de Cr ( $\text{mg.dm}^{-3}$ ) por percolação registada ao longo do tempo dos ensaios (meses). ....	146
<b>Figura 6.59:</b> Fitorremediação de zinco utilizando <i>A. donax</i> L. ....	148

<b>Figura 6.60:</b> Fitoextracção de zinco utilizando <i>A. donax</i> L.....	149
<b>Figura 6.61:</b> Percentagem de acumulação (%) de zinco da fracção total de Zn do solo.....	150
<b>Figura 6.62:</b> Percentagem de acumulação (%) de zinco da fracção biodisponível de Zn do solo. ....	150
<b>Figura 6.63:</b> Factor de bioacumulação de zinco face aos teores de Zn na biomassa. ....	151
<b>Figura 6.64:</b> Factor de bioacumulação de zinco no total da biomassa de <i>A. donax</i> L. de cada face aos teores de Zn biodisponível nos solos. ....	151
<b>Figura 6.65:</b> Razão entre o teor de zinco (mg Zn/m <sup>2</sup> ) acumulado nas componentes aéreas e os teores de zinco (mg Zn/m <sup>2</sup> ) acumulados nas componentes subterrâneas da biomassa. ....	152
<b>Figura 6.66:</b> Fitorremediação de crómio utilizando <i>A. donax</i> L.....	153
<b>Figura 6.67:</b> Fitoextracção de crómio utilizando <i>A. donax</i> L.....	153
<b>Figura 6.68:</b> Percentagem de remoção (%) de crómio da fracção total do solo. ....	154
<b>Figura 6.69:</b> Percentagem de remoção (%) de crómio da fracção biodisponível do solo.....	155
<b>Figura 6.70:</b> Factor de bioacumulação de crómio no total da biomassa de <i>A. donax</i> L. levando em conta a fracção de crómio nos vasos controlo. ....	155
<b>Figura 6.71:</b> Factor de bioacumulação de crómio no total da biomassa de <i>A. donax</i> L. levando em conta a fracção biodisponível de crómio do solo. ....	156
<b>Figura 6.72:</b> Razão entre o teor de crómio (mg Cr/m <sup>2</sup> ) acumulado nas componentes aéreas e os teores de crómio (mg Cr/m <sup>2</sup> ) acumulados nas componentes subterrâneas da biomassa.....	157
<b>Figura 6.73:</b> Balanço energético estimado (GJ.ha <sup>-1</sup> ) para diferentes usos dos caules de <i>A. donax</i> L. a 950 mm.....	158
<b>Figura 6.74:</b> Balanço energético estimado (GJ.ha <sup>-1</sup> ) para diferentes usos dos caules de <i>A. donax</i> L. a 475 mm.....	159
<b>Figura 6.75:</b> Balanço energético estimado (GJ.ha <sup>-1</sup> ) para diferentes usos dos caules de <i>A. donax</i> L. a 238 mm.....	159
<b>Figura 6.76:</b> Sequestro de C (Mg C.ha <sup>-1</sup> ) pelas folhas de <i>A. donax</i> L. ....	160
<b>Figura 6.77:</b> Redução das emissões de CO <sub>2</sub> (Mg CO <sub>2</sub> -eq.ha <sup>-1</sup> ) a 950 mm. ....	161
<b>Figura 6.78:</b> Redução das emissões de CO <sub>2</sub> (Mg CO <sub>2</sub> -eq.ha <sup>-1</sup> ) a 475 mm. ....	162
<b>Figura 6.79:</b> Redução das emissões de CO <sub>2</sub> (Mg CO <sub>2</sub> -eq.ha <sup>-1</sup> ) a 238 mm. ....	162
<b>Figura 6.80:</b> Emissões de NO <sub>x</sub> , NH <sub>3</sub> +NO <sub>x</sub> , NH <sub>4</sub> +NO <sub>3</sub> e N <sub>2</sub> O (kg N.ha <sup>-1</sup> ) a 950 mm. ....	163
<b>Figura 6.81:</b> Emissões de NO <sub>x</sub> , NH <sub>3</sub> +NO <sub>x</sub> , NH <sub>4</sub> +NO <sub>3</sub> e N <sub>2</sub> O (kg N.ha <sup>-1</sup> ) a 475 mm.....	164
<b>Figura 6.82:</b> Emissões de NO <sub>x</sub> , NH <sub>3</sub> +NO <sub>x</sub> , NH <sub>4</sub> +NO <sub>3</sub> e N <sub>2</sub> O (kg N.ha <sup>-1</sup> ) a 238 mm.....	164
<b>Figura 6.83:</b> Emissões totais de NO <sub>x</sub> , NH <sub>3</sub> +NO <sub>x</sub> , NH <sub>4</sub> +NO <sub>3</sub> e N <sub>2</sub> O (kg N.ha <sup>-1</sup> ) para os diferentes tratamentos e regimes de fornecimento hídrico. ....	165



# ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 2.1:</b> Valor médio da concentração total de metais pesados em diferentes solos do mundo (mg kg <sup>-1</sup> ; Kabata-Pendias, 2011).	9
<b>Quadro 2.2:</b> Principais utilizações de Zn e Cr em diferentes actividades e indústrias (Fernando, 2005).	9
<b>Quadro 2.3:</b> Reservas mundiais e produção (minério e concentrado) de crómio nos principais países produtores (Dhal et al., 2013).	10
<b>Quadro 2.4:</b> Produção de minério de zinco nos principais países produtores (World Mineral Production, 2007-2011).	10
<b>Quadro 2.5:</b> Conteúdos de metais pesados na atmosfera, em diferentes localizações geográficas (ng.m <sup>3</sup> ; Kabata-Pendias, 2011).	11
<b>Quadro 2.6:</b> Conteúdos de metais pesados em sistemas fluviais (µg/L) e médias globais dos fluxos de metais para os mares e oceanos (kt.ano <sup>-1</sup> ) (Kabata-Pendias, 2011).	12
<b>Quadro 2.7:</b> Conteúdos de metais pesados nos fertilizantes, lamas e cinzas volantes (mg.kg <sup>-1</sup> ) (Kabata-Pendias, 2011).	12
<b>Quadro 2.8:</b> Principais fontes de poluição com Zn e Cr e riscos ambientais e sanitários (Fernando, 2005).	13
<b>Quadro 2.9:</b> Valores Limite de concentração de metais pesados nas lamas, destinadas a aplicação no solo agrícola, Valores Limite para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos cultivados, com base numa média de 10 anos, e Valores Limite de concentração de metais pesados nos solos em função do seu pH. Os valores de VLCL e VL pH estão expressos em mg kg <sup>-1</sup> (matéria seca) e os de VL 10 em kg ha <sup>-1</sup> ano <sup>-1</sup> de (matéria seca).	15
<b>Quadro 2.10:</b> Formas químicas em que poderão surgir alguns metais pesados na solução do solo e em corpos de água naturais (Prasad, 2004).	17
<b>Quadro 3.1:</b> Tecnologias físico-químicas mais aplicadas na descontaminação dos solos (Kabata-Pendias, 2011).	22
<b>Quadro 3.2:</b> Coeficientes de fitoextração para alguns metais pesados, utilizando <i>Brassica juncea</i> (Kumar et al., 1995).	25
<b>Quadro 3.3:</b> Vantagens e desvantagens dos mecanismos de fitorremediação.	35
<b>Quadro 4.1:</b> Análise química de material desbastado e peletizado de <i>A. donax</i> em comparação com outras espécies (matéria seca) (Pilu et al., 2012).	45
<b>Quadro 4.2:</b> Análise química das emissões da combustão da biomassa de <i>A. donax</i> em comparação com outras espécies (mg.m <sup>3</sup> ) (Pilu et al., 2012).	45
<b>Quadro 5.1</b> – Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química e da ecotoxicidade das lamas de Zn e Cr.	55
<b>Quadro 5.2</b> – Métodos analíticos utilizados na caracterização dos solos.	57
<b>Quadro 5.3</b> – Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das plantas.	61
<b>Quadro 5.4:</b> Métodos analíticos utilizados na caracterização das águas utilizadas na irrigação e das águas de percolação.	62
<b>Quadro 5.5</b> – Metais estudados, níveis de contaminação testados e níveis de fornecimento hídrico testados.	63
<b>Quadro 6.1</b> – Caracterização físico-química das LRI's provenientes da Chamusca (CIRVER-SISAV).	67
<b>Quadro 6.2</b> – Caracterização físico-química das LRI's provenientes do CTIC (Alcanena).	68
<b>Quadro 6.3</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o n° de caules na experiência de Zn.	70
<b>Quadro 6.5</b> – Altura das plantas (cm).	71
<b>Quadro 6.6</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a altura dos caules.	73
<b>Quadro 6.7</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a altura das plantas na experiência de Cr.	74
<b>Quadro 6.8</b> – Diâmetro basal dos caules (mm).	74
<b>Quadro 6.9</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o diâmetro dos caules (mm) na experiência de Zn.	75

<b>Quadro 6.10</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o diâmetro dos caules (mm) na experiência de Cr. ....	76
<b>Quadro 6.11</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de nós na experiência de Zn. ....	77
<b>Quadro 6.12</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de nós na experiência de Cr. ....	78
<b>Quadro 6.13</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a distância de entrenós na experiência de Zn. ....	80
<b>Quadro 6.14</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a distância de entrenós na experiência de Cr. ....	80
<b>Quadro 6.15</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de folhas na experiência de Zn. ....	82
<b>Quadro 6.16</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de folhas na experiência de Cr. ....	83
<b>Quadro 6.17</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o LAI (cm <sup>2</sup> cm <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn. ....	84
<b>Quadro 6.18</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o LAI (cm <sup>2</sup> cm <sup>-2</sup> ) na experiência de Cr. ....	85
<b>Quadro 6.16</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o comprimento da maior raiz (cm) na experiência de Zn. ....	87
<b>Quadro 6.20</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades dos caules (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn. ....	89
<b>Quadro 6.21</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades dos caules (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Cr. ....	90
<b>Quadro 6.22</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades das folhas (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn. ....	93
<b>Quadro 6.23</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades das folhas (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Cr. ....	94
<b>Quadro 6.24</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a MM (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn. ....	96
<b>Quadro 6.25</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a MM (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Cr. ....	98
<b>Quadro 6.26</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades da BNA (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn. ....	100
<b>Quadro 6.27</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades da BNA (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Cr. ....	100
<b>Quadro 6.28</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades das raízes (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn e Cr. ....	102
<b>Quadro 6.29</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades dos rizomas (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn e Cr. ....	104
<b>Quadro 6.30</b> – Produtividades globais dos ensaios (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Zn. Apresentam-se os valores de produtividade por fracção da planta para os dois anos de ensaios, para cada tratamento e nível de fornecimento hídrico. Os valores da MM referem-se às massas expressas por metro quadrado de folhas mortas. SR refere-se ao sistema radicular (somatório de componentes subterrâneas). ....	107
<b>Quadro 6.31</b> – Produtividades globais dos ensaios (g.m <sup>-2</sup> ) na experiência de Cr. Apresentam-se os valores de produtividade por fracção da planta para os dois anos de ensaios, para cada tratamento e nível de fornecimento hídrico. Os valores da MM referem-se às massas expressas por metro quadrado de folhas mortas. ....	109
<b>Quadro 6.32</b> – Teor de cinzas (%) nas diferentes componentes da biomassa de <i>A. donax</i> L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Zn. ....	111
<b>Quadro 6.33</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas dos caules (%; matéria seca) na experiência de Zn. ....	113
<b>Quadro 6.34</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas (%; matéria seca) das folhas na experiência de Zn. ....	114
<b>Quadro 6.35</b> – Teor de cinzas (%) nas diferentes componentes da biomassa de <i>A. donax</i> L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Cr. ....	116

<b>Quadro 6.36</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas dos caules (%; matéria seca) na experiência de Cr.....	117
<b>Quadro 6.37</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas das folhas (%; matéria seca) na experiência de Cr. ....	117
<b>Quadro 6.38</b> – Teores de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ; matéria seca) nas diferentes componentes da biomassa de <i>A. donax</i> L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Zn. ....	118
<b>Quadro 6.39</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Zn ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ; matéria seca) dos caules na experiência de Zn. ....	119
<b>Quadro 6.42</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Zn ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ; matéria seca) das folhas na experiência de Zn.....	120
<b>Quadro 6.43</b> – Índices de correlação ( $R^2$ ) teor de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) em cada estrutura da planta com as concentrações de zinco da fracção total e da fracção biodisponível do solo ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ).....	123
<b>Quadro 6.42</b> – Teores de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) nas diferentes componentes da biomassa de <i>A. donax</i> L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Cr. ....	123
<b>Quadro 6.43</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Cr ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) nos caules na experiência de Cr. ....	124
<b>Quadro 6.46</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Cr ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) nas folhas na experiência de Cr.....	125
<b>Quadro 6.45</b> – Índices de correlação ( $R^2$ ) teor de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) em cada estrutura da planta com as concentrações de crómio da fracção total e da fracção biodisponível do solo ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ )...	127
<b>Quadro 6.48</b> – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nos caules na experiência de Zn.....	128
<b>Quadro 6.49</b> – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas folhas na experiência de Zn. ....	128
<b>Quadro 6.50</b> – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas raízes e rizomas na experiência de Zn. ....	129
<b>Quadro 6.51</b> – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nos caules na experiência de Cr. ....	130
<b>Quadro 6.52</b> – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas folhas na experiência de Cr.....	131
<b>Quadro 6.53</b> – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas raízes e rizomas na experiência de Cr. ....	131
<b>Quadro 6.54</b> – Valores de P (ANOVA) para as diferenças entre perfil superior (P. Superior) e inferior (P. Inferior) do solo nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento, nos vasos com e sem plantas. ....	138
<b>Quadro 6.55</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre tratamentos nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nos solos. ....	138
<b>Quadro 6.56</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre vasos com plantas (VCP) e vasos sem plantas (VSP) nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento.....	138
<b>Quadro 6.57</b> – Valores de P (ANOVA) para as diferenças entre perfil superior (P. Superior) e inferior (P. Inferior) do solo nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento, nos vasos com e sem plantas.....	141
<b>Quadro 6.58</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre tratamentos nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) nos solos. ....	142
<b>Quadro 6.59</b> – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre vasos com plantas (VCP) e vasos sem plantas (VSP) nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento.....	142
<b>Quadro 6.60</b> – Caracterização físico-química das águas de irrigação. ....	143
<b>Quadro 6.61</b> – Caracterização físico-química das águas de percolação.*Valor médio para todos os tratamentos, por não terem sido encontradas diferenças entre as amostras contaminadas, entre si e com o controlo.....	144

## **Lista de abreviaturas, siglas e símbolos**

I1 – Fornecimento hídrico de 950 mm por vaso.

I2 – Fornecimento hídrico de 475 mm por vaso.

I3 – Fornecimento hídrico de 238 mm por vaso.

LRI's – Lamas residuais industriais.

VLCL - Valores Limite de concentração de metais pesados nas lamas

VL10 - Valores Limite para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos cultivados (com base numa média de 10 anos)

VLpH - Valores Limite de concentração de metais pesados nos solos em função do seu pH

ms – matéria seca.

BNA – Biomassa não-*Arundo*.

MM – Manta morta.

### **Notas:**

Foi seguida a convenção anglosaxónica de utilizar o ponto em vez da vírgula na demarcação decimal de números, por limitações inerentes ao programa de computador inicialmente utilizado (e.g., 1.0 em vez de 1,0).

Em todos os gráficos que resultam da obtenção de dados experimentais, são apresentados os resultados médios dos replicados e as barras de erro correspondem ao desvio padrão.

# 1. Introdução

O uso dos metais está intrinsecamente associado ao desenvolvimento da civilização, muitos deles sendo componentes vitais da tecnologia moderna. Ao contrário de muitos compostos usados na indústria, medicina e agricultura, os metais são parte integrante dos ciclos biogeoquímicos naturais. As actividades humanas influenciam este ciclo alterando a sua forma e a respectiva taxa de transporte entre os diversos reservatórios do planeta. Desse modo, a libertação de metais, por exemplo, da crosta terrestre, pode afectar os seres vivos de sistemas aquáticos afastados dos depósitos originais. Os metais e outros elementos de interesse económico estão depositados quando as condições geoquímicas reduzem a sua mobilidade. Na ausência das actividades humanas, os elementos são lixiviados nos ambientes terrestres e aquáticos a taxas correspondentes aos tempos de erosão química e mecânica naturais (Benjamin e Honeyman, 1992). Contudo, o uso de efluentes municipais, pesticidas, fertilizantes, emissões de incineradoras de resíduos, emissões de veículos automóveis, resíduos da indústria siderúrgica, da mineração (Alloway, 1995; Garbisu e Alkorta, 2003), e ainda a construção e as mudanças em larga escala nos ambientes naturais, alteraram a taxa de libertação de elementos na ecossfera. Depósitos concentrados e confinados a alguns locais da crosta terrestre são explorados e os metais extraídos e difundidos por áreas consideráveis. Deste modo, diversos metais, principalmente a partir do século XX, contaminaram todos os ecossistemas do planeta. Os metais constituem hoje o principal grupo de contaminantes inorgânicos. Por transporte e deposição atmosférica atingiram regiões longínquas, como as calotes polares. Muitos seres vivos estão hoje expostos a níveis desses metais muito superiores aos dos séculos pré-industriais. Os níveis de Pb no organismo humano, por exemplo, são hoje cerca de 100 vezes superiores (concentração nos ossos) aos medidos há 200 anos (Varenes, 2003). Uma das características da mobilização e deposição do ciclo dos metais é que a forma do metal sofre mudanças. Essa mudança na especiação de um metal tem efeitos profundos no seu destino. Uma das propriedades mais importantes, que distingue os metais dos restantes elementos, embora entre eles seja comum, é a sua tendência para estabelecer ligações reversíveis com um variadíssimo número de compostos. A disponibilidade e natureza destes compostos num determinado sistema, como o solo, onde tendencialmente se vêm depositar, podem controlar o transporte e o destino dos metais.

Níveis excessivos de metais nos solos podem resultar na degradação da sua qualidade, na redução do rendimento das culturas, e na fraca qualidade dos produtos agrícolas, podendo ocasionar a contaminação das águas e alimentos vegetais, acarretando riscos para o Homem, animais e ambiente, via bioacumulação e transferência entre níveis tróficos.

Justifica-se, assim, encontrar soluções para o tratamento dos solos contaminados com metais pesados, não só porque estes podem constituir um perigo para a saúde pública mas também porque a área de solos contaminados não estará disponível para produção de culturas agrícolas alimentares. Diversos tipos de tecnologias têm sido utilizados para remediar solos contaminados com metais pesados. As técnicas físico-químicas encontram-se entre as mais vulgarizadas: 1) escavação seguida de remoção e deposição em local controlado; 2) tratamento químico/estabilização; 3) encapsulação e cobertura com solo limpo; 4) vitrificação; 5) solidificação/estabilização; e, 6) lavagem do solo (Fernando, 2005; Papazoglou, 2014). São, contudo, técnicas dispendiosas, podendo não constituir a opção mais atraente, especialmente quando não existem riscos óbvios para as populações (Fernando, 2005), envolvendo em alguns casos a remoção do solo, desconsiderando a possibilidade de preservação de algumas das suas propriedades e características, assim como diversas relações bióticas e abióticas com as quais este ainda possa manter.

A fitorremediação constitui uma tecnologia ecologicamente sustentável e economicamente mais atraente que as tecnologias físico-químicas (Raskin *et al.*, 1994; Mulligan, *et al.*, 2001). É menos dispendiosa, consistindo no uso de vegetação, *in situ*, e microrganismos associados, na remoção de poluentes de solos contaminados (Fernando e Oliveira, 2004a). Nesta abordagem, e para o caso dos poluentes se tratarem de metais pesados, são usadas espécies que podem tolerar elevadas concentrações de metais – plantas hipertolerantes – e/ou espécies que podem acumular elevadas concentrações de metais nos seus tecidos – plantas hiperacumuladoras. A hipertolerância parece ser um requisito fundamental à hiperacumulação (Chaney *et al.*, 1997; Boularbah *et al.*, 2006). A tecnologia de fitorremediação envolve mecanismos que podem conduzir à degradação, acumulação, dissipação ou imobilização do contaminante (Pivet, 2001; EPA, 2000; Lázaro *et al.*, 2006; Mirza *et al.*, 2011).

Muitas pesquisas têm vindo a ser conduzidas com o intuito de determinar que espécies de plantas apresentam a capacidade de produzir elevados rendimentos de biomassa e tolerar e/ou acumular metais pesados (Cunningham e Ow, 1996; Huang *et al.*, 1997; Meers *et al.*, 2005). Contudo, o número conhecido de plantas com essa capacidade é ainda reduzido (EPA, 2000; Baker *et al.*, 2000). As espécies hiperacumuladoras são relativamente raras, existindo geralmente em áreas geograficamente remotas ou distribuindo-se em zonas ameaçadas pela devastação mineira (Blaylock, 2000). Contudo, o seu potencial de exploração, como meio de descontaminação de solos, é claramente limitado pelas baixas produtividades alcançadas (Chaney *et al.*, 1997). O ideal é assim, encontrar e aplicar, nos terrenos contaminados, espécies de crescimento rápido que apresentem elevados rendimentos na sua biomassa, que apresentem sistemas radiculares profundos e bem desenvolvidos e que das quais se detenha já algum

conhecimento agronômico, e que sejam tolerantes a níveis elevados de metais nos solos. Para além disso, devem ainda possuir se possível, elevadas eficiências do uso de recursos como água e nutrientes, elevada tolerância a pragas, elevada capacidade adaptativa às condições edafoclimáticas do local de *fitotratamento*, assim como baixas exigências ecológicas. Se, aliada a todas essas características, a sua biomassa puder ser valorizada para fins comerciais, nomeadamente para fins energéticos, para o mercado de fibra ou outros bioprodutos, caso dos bioplásticos, a sua produção em solos contaminados e outros solos marginais (Dauber et al., 2012) constitui uma opção viável e necessária, sobretudo se atendermos a uma lógica de gestão integrada dos recursos disponíveis. Tal conceito enquadra-se na lógica de *biorefinaria*, na qual se procura o uso integral da biomassa, no caso plantas usadas na fitorremediação de meios contaminados, de um modo sustentável para a produção de biocombustíveis, energia, materiais e químicos com elevado valor incorporado (Prasad, 2014).

As culturas industriais, energéticas ou de fibra reúnem essas características. Culturas como o linho, *switchgrass*, bambu, cana, kenaf, *ramie*, juta, sisal, *kapoc*, *spartium*, cardo, cártamo, girassol, urtiga, papiro, *miscanthus* e cânhamo, entre outras, têm vindo a atrair interesse de vários pesquisadores (Klang-Westin e Perttu, 2002; Linger *et al.*, 2002; Pulford e Watson, 2003; Arduini *et al.*, 2004; Fernando *et al.*, 1996; Fernando e Oliveira, 2004b; Fernando *et al.*, 2004; Fernando, 2005; Meers *et al.*, 2005; Arduini *et al.*, 2006). Para as plantas referidas, a capacidade de bioacumulação de metais, situa-se bastante abaixo das referidas para as plantas hiperacumuladoras, mas a remoção final de contaminantes é determinada pela produção anual de biomassa e respectivo conteúdo em metais. Contudo, mesmo sendo cientes de que essas espécies possam apresentar baixos factores de bioacumulação, elas podem ser hipertolerantes aos metais pesados, e por essa razão, poderão ser utilizadas na exploração de solos contaminados. Para além dessas vantagens, estas culturas podem aumentar a incorporação dos conteúdos de matéria orgânica nos solos, melhorar a fertilidade e estrutura do solo, ajudar no controlo da erosão eólica e hídrica dos terrenos por cobertura vegetal, aumentar a diversidade biológica e paisagística (Oliveira *et al.*, 2001; Fazio and Monti, 2011; Fernando *et al.*, 2010b e 2011; Finnan and Styles, 2013; Zegada-Lizarazu and Monti, 2011) promovendo-se o controlo, mitigação e, em determinado grau, reversibilidade do processo de desertificação (Barbosa *et al.*, 2014) que está associado à solos contaminados. Nesse caso, existe um potencial de exploração desses locais, na produção de biomassa para fins energéticos (Pimentel e Pimentel, 2006; Papazoglou, 2007), para fins de produção de fibra e outros produtos, ao mesmo tempo que se promove a descontaminação e valorização dos solos.

Neste contexto, o presente trabalho pretende contribuir para o estudo das potencialidades da planta *Arundo donax* L. na fitorremediação de solos contaminados com os metais pesados Zn e

Cr, perante diferentes disponibilidades hídricas (uma vez que em contexto mediterrânico, a utilização de recursos hídricos é também importante). Trata-se de uma espécie herbácea perene, de crescimento rápido e muito vigorosa, com rizomas e raízes muito profundas, que alia elevadas produtividades na sua biomassa a elevadas eficiências de utilização de recursos como água e nutrientes. Face a algumas características fisiológicas da espécie, à sua elevada adaptabilidade a diversas condições edafo-climáticas, e ainda com base em diversos estudos consultados, parece fazer sentido utilizá-la para fins de fitorremediação em solos marginais como solos contaminados com Zn e Cr. É uma espécie com comportamento invasor na maioria dos países mediterrâneos, e por essa razão defende-se somente a sua implementação em terrenos marginais ou degradados, onde o seu cultivo e utilização possam ser devidamente controlados. Sempre que possível, deverão ser utilizados planos de contenção da espécie na margem do terreno de tratamento, de modo a impedir que a espécie se propague a solos férteis/ com valor, contíguos ou nas imediações.

A intenção e decisão de se estudar esta planta na fitorremediação de solos contaminados com os metais pesados Zn e Cr, surge no âmbito do projecto OPTIMA – *Optimization of Perennial Grasses for Biomass Production* – financiado pela União Europeia, cujo objectivo principal é a identificação de plantas herbáceas perenes de elevada produtividade na região Mediterrânica, que inseridas numa cadeia de produção otimizada forneçam uma fonte estável, tanto para energia como para biomateriais. O projecto OPTIMA ambiciona também explorar as potencialidades das culturas herbáceas perenes em solos marginais ou subutilizados, através de uma abordagem interdisciplinar, em particular nas áreas da fisiologia vegetal, biotecnologia e agronomia, assim como através da análise socioeconómica e ambiental da fileira de produção e utilização.

O presente trabalho encontra-se dividido em duas partes distintas: a primeira parte essencialmente teórica onde é feita uma revisão bibliográfica relativa à contaminação de solos por metais pesados e riscos associados, tecnologias de descontaminação com ênfase para a fitorremediação com culturas energéticas, e uma caracterização da planta seleccionada; e a segunda parte onde se descreve o trabalho experimental realizado, discussão dos resultados e conclusão.

Para avaliar a capacidade da cana (*Arundo donax* L.) na fitorremediação de solos contaminados com metais pesados foi conduzido um estudo experimental que inclui um conjunto de ensaios de fitotoxidade realizados em vasos, assim como diversas análises físico-químicas aplicadas às lamas utilizadas na contaminação dos solos, aos solos, às águas de irrigação e de percolação e à biomassa obtida. Foram escolhidos os metais Zn e Cr por estarem contemplados na legislação portuguesa, e por se tratar de dois metais com diferentes mobilidades no solo. A gama de



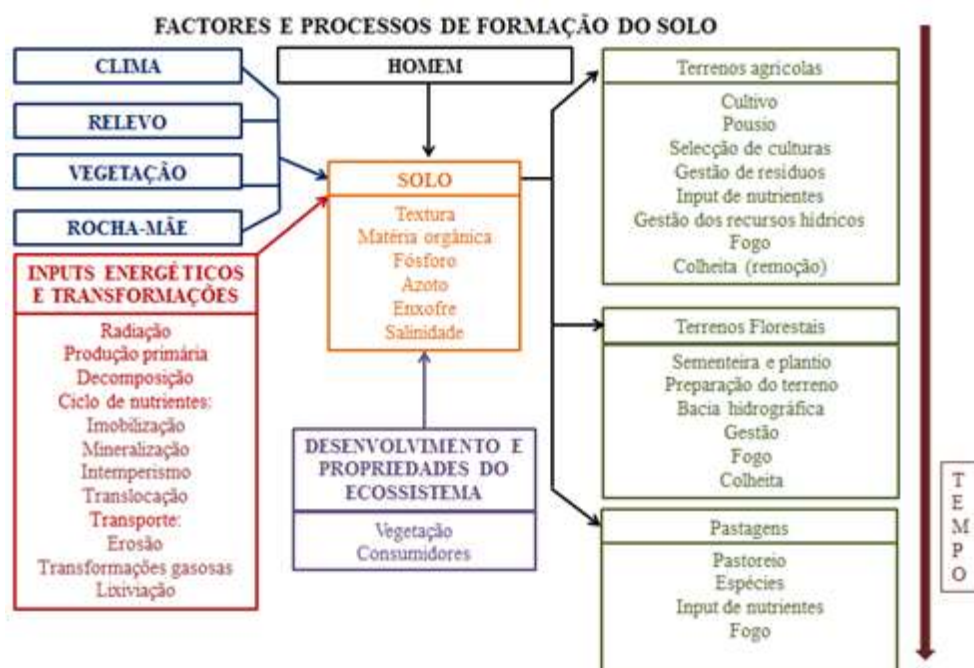
concentrações escolhida apresenta os valores máximos permitidos no Decreto-Lei nº 276/09, de 2 de Outubro (transposição da Directiva nº 86/278/CEE do Conselho, de 12 de Junho), e o dobro dessa concentração, para ambos os metais. A rega dos vasos foi efectuada com base nas exigências hídricas da planta (900 – 1000 mm), referidas na literatura (Mantineo et al., 2009; El Bassam, 2010), testando-se ainda os efeitos de diferentes disponibilidades hídricas inferiores a esse volume.

O conjunto de ensaios pretende alcançar os seguintes objectivos:

- Analisar o efeito contaminação dos solos com Zn ou Cr, e de diferentes regimes de fornecimento de água, no crescimento, produtividade e qualidade da biomassa de *Arundo donax* L.
- Determinar a eficiência da fitorremediação/ remoção de Zn e Cr dos solos, por componente das plantas a diferentes fornecimentos hídricos;
- Analisar a qualidade da biomassa de *Arundo donax* L. em dois ciclos de crescimento em vasos contendo solos contaminados com Zn e Cr, para diferentes disponibilidades hídricas;
- Estudar o comportamento do Zn e do Cr nos solos contaminados;
- Quantificar a transferência de metais, dos solos para as plantas cultivadas nos vasos;
- Identificar possíveis relações solo-plantas, em termos dos metais em análise;
- Caracterizar as águas de irrigação e de percolação, de modo a avaliar possíveis riscos de contaminação das águas subterrâneas.
- Determinar se os fornecimentos hídricos apresentam um efeito dominante nas produtividades, absorção de nutrientes essenciais e metais.
- Efectuar uma análise de sustentabilidade ambiental da aplicação da espécie *A. donax* L. na fitorremediação de solos contaminados com Zn e Cr.

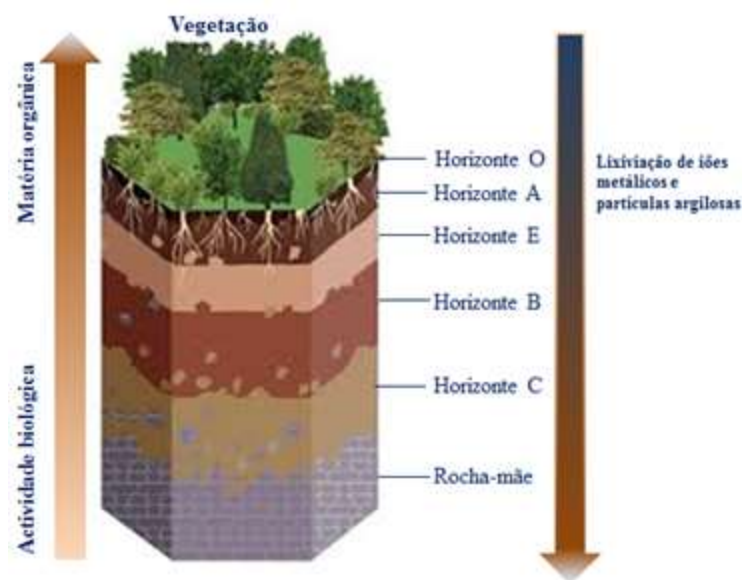
## 2. Contaminação de solos com metais pesados

O solo é meio natural complexo e heterogêneo, diferenciado em horizontes com constituintes orgânicos e minerais, usualmente inconsolidados, que cobre a superfície terrestre emersa, situado entre a litosfera e a atmosfera, de profundidade variável, resultante da decomposição do material parental, conduzida pelos agentes biológicos, físicos e químicos específicos para uma determinada região do planeta e que com ele interactivam, pela matéria orgânica produzida na decomposição dos resíduos vegetais pela acção dos agentes biológicos, pela água e sais nela dissolvidos, bem como pelo ar (Coleman, 2001; Costa, 2004). O solo fornece a base para estradas e fundações de edifícios, desempenhando diversas funções comuns a qualquer ecossistema, desde explorações agrícolas, florestas ou pastagens: a) fornece suporte ao crescimento vegetal; b) recicla resíduos e tecidos animais e vegetais mortos; c) fornece nicho ecológico a milhões de seres vivos; d) controla o movimento e qualidade da água nas bacias hidrográficas (Varennnes, 2003). A sua formação é resultado de uma série de factores e processos (Figura 2.1) de natureza climática, biológica, topográfica (inclinação e relevo) que operam continuamente no material parental que lhe dá origem (Coleman, 2001).



**Figura 2.1:** Factores e processos de formação do solo e respectiva interacção ao longo do tempo (Adaptado de Coleman, 2001). A azul estão representados os factores e a vermelho os processos que conduzem à formação de um solo.

Tais factores afectam os grandes processos ecossistémicos como a produção primária, a decomposição e os ciclos de nutrientes, conduzindo ao desenvolvimento de ecossistemas com propriedades únicas para um determinado tipo de solo, como resultado da sua história anterior. Também os factores bióticos (microbiota, vegetação e consumidores) são influenciados por processos presentes no solo, tendo, por seu turno também, uma influência no mesmo sistema (Coleman, 2001; Coleman e Whitman, 2005). A influência de todos esses factores conduz à sua diferenciação, em sentido vertical e ao longo do tempo, conduzindo à formação de diferentes horizontes (**Figura 2.2**): sistemas abertos, onde ocorrem de forma contínua trocas de energia e matéria, com a atmosfera, hidrosfera e biosfera (Varennnes, 2003; Fernando, 2005). Face à ampla diversidade de solos existentes no mundo, mas também ao facto de existirem processos semelhantes que originam solos semelhantes, muitos países adoptaram sistemas de classificação de solos. Uma vez que também existem muitos sistemas de classificação, sendo difícil a comparação dos solos dos diferentes países, a FAO-UNESCO publicou um mapa mundial de solos (escala de um para cinco milhões) de acordo com um sistema designado por Sistema FAO de Classificação de Solos (FAO-UNESCO, 1974), incluindo 28 unidades principais (Varennnes, 2003). Cada tipo de solo apresenta assim, diferentes propriedades físicas e químicas do solo que irão influenciar o seu comportamento e modo como deve ser gerido, especialmente quando este se encontra degradado.



**Figura 2.2** – Perfil do solo (Adaptado de Fernando, 2005; Nature.com, 2014).

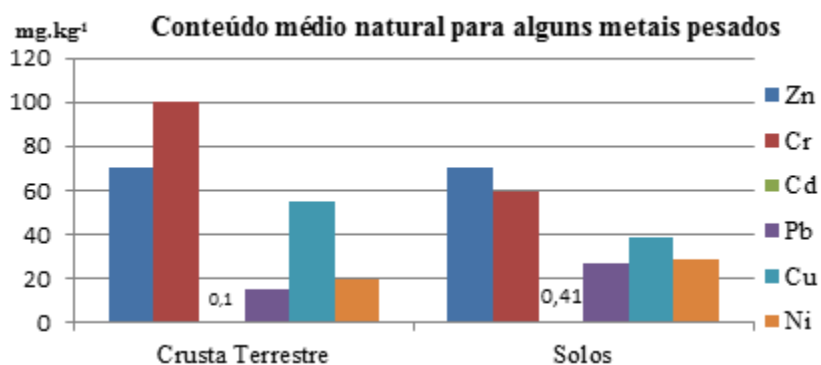
Neste trabalho focamos a nossa atenção na descontaminação de solos com metais pesados, nomeadamente ao estudo de dois elementos: o zinco (Zn) e o crómio (Cr); metais com diferentes mobilidades no solo, onde por diversos processos tendem a depositar-se. Para tal, necessitamos, em primeira instância, entender a natureza desses elementos assim como o modo

como interação com o sistema solo. Referimo-nos assim, primeiro, à sua definição, aos processos biogeoquímicos de que fazem parte, aos riscos para o Homem, restantes seres vivos e ambiente quando expostos a elevadas concentrações desses elementos, e, no final, à abordagem que pretendemos aplicar para remover metais pesados dos solos. Essa abordagem será descrita no próximo capítulo e será tema do trabalho experimental do presente trabalho.

## 2.1. Metais pesados: definição e teores nos solos

Metais pesados são um grupo de elementos químicos com carácter metálico com densidade superior a  $6,0 \text{ g cm}^{-3}$  (Alloway, 1995). Essa designação envolve muita controvérsia, por muitas vezes se referir a grupos de elementos que incluem metais leves e semimetais potencialmente tóxicos aos seres vivos. Num estudo efectuado pela IUPAC, aborda-se essa discussão (Duffus, 2002), podendo ser encontradas definições segundo a densidade, massa atómica relativa, número atómico, propriedades químicas e com base na toxicidade desses elementos. No contexto deste trabalho, a expressão *metal pesado* é utilizada com base na sua toxicidade, a sua característica mais notória, uma vez que muitos destes elementos são nocivos para o Homem, restantes seres vivos e ecossistemas em geral.

Distribuem-se naturalmente no Ambiente através dos seus ciclos biogeoquímicos. Os metais pesados são libertados naturalmente devido à meteorização das rochas e a emissões vulcânicas. A respectiva distribuição no perfil do solo é dependente da rocha-mãe de origem, isto é, do respectivo grau de meteorização, e dos processos de pedogénese que ocorreram, embora normalmente tendam a concentrar-se nas zonas superiores do perfil do solo (Clemente *et al.*, 2008; Chopin *et al.*, 2008; Ruan *et al.*, 2008). Devido à enorme variabilidade de solos, resultante de inúmeros processos de pedogénese e processos geológicos que originaram a rocha-mãe, assim como a muitos factores que condicionam os processos anteriores, muitos dos quais ainda desconhecidos (Benjamin e Honeyman, 1992) é difícil falarmos de teores normais de metais pesados. A **Figura 2.3** apresenta os teores naturais (*background levels*) de diferentes metais para a média dos solos do mundo e média da crosta terrestre.



**Figura 2.3** – Teores naturais (*background levels*) médios de diferentes metais na crosta terrestre e nos solos (mg.kg<sup>-1</sup>), numa base global (Adaptado de Kabata-Pendias, 2011).

Observa-se, para os valores dos conteúdos médios globais dos diferentes metais apresentados, e para a mesma unidade, que estes são diversos nos solos quando comparados com os da crosta terrestre, assim como de metal para metal. Dentre o grupo de metais representados, o Zn e Cr, apresentam teores mais elevados, quer na crosta terrestre, quer nos solos. O **Quadro 2.1** mostra os valores médios em mg.kg<sup>-1</sup> para os mesmos metais em diferentes tipos de solos, calculados a uma escala global.

**Quadro 2.1:** Valor médio da concentração total de metais pesados em diferentes solos do mundo (mg kg<sup>-1</sup>; Kabata-Pendias, 2011).

Elemento	Podzóis	Cambissolos	Calcissolos/ Leptossolos	Castanozemes/ Chernozemes	Histossolos
Cd	0.01-2.7	0.08-1.61	0.38-0.84	0.18-0.71	0.19-2.2
Cr	1.4-530	4-1100	5-500	11-195	1-100
Cu	1-70	4-100	6.8-70	6.5-140	1-113
Ni	1-110	3-110	2-450	6-61	0.2-119
Pb	2.3-70	1.5-70	10-50	8-70	1.5-176
Zn	3.5-220	9-362	10-570	20-770	5-250

O uso dos metais está vinculado ao desenvolvimento da civilização, e hoje são inúmeras as suas utilizações, em diferentes actividades e indústrias (**Quadro 2.2**). Neste trabalho, destacam-se os casos do cromo e do zinco.

**Quadro 2.2:** Principais utilizações de Zn e Cr em diferentes actividades e indústrias (Fernando, 2005).

Zn – Ligas metálicas; zincagem de outros metais; baterias; moedas; pigmentos; tintas; tintas de impressão; plásticos; sabões; cosméticos; produtos farmacêuticos; têxteis; produtos de borracha; equipamentos eléctricos; anúncios luminosos; equipamentos de Raios X; monitores de TV; luzes fluorescentes; produtos químicos; vidro; lubrificantes; pesticidas; fungicidas; construção civil; promotores de crescimento na indústria alimentar de suínos e aves.

Cr – Endurecimento de ligas metálicas, cromagem; anticorrosivo em sistemas de aquecimento; instrumentos de corte; indústria de curtumes; indústria têxtil; produtos químicos; anodização do alumínio (indústria aeronáutica); a cromite é utilizada na indústria refractária; pigmentação verde do vidro; pigmentos; tintas; impregnante da madeira; fitas magnéticas.

O cromo é um metal não-essencial altamente tóxico para os microrganismos e plantas e de ocorrência rara na natureza. É considerado como um dos principais contaminantes dos últimos 15 anos (Dhal et al., 2013). Encontra-se em várias formas, mas a forma mineral rentável de extracção é a do mineral cromite. A sua produção total no mundo, entre 2010-2011 foi de 23.700 e 24.000 milhares de toneladas métricas, respectivamente (peso bruto de minério de cromite disponível em mercado). As reservas totais mundiais estão estimadas em mais de 480 milhões de toneladas métricas, sendo que cerca de 45% desse valor está na forma de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

(Dhal et al., 2013). O **Quadro 2.3** apresenta a localização e produção das maiores reservas mundiais de mineral de cromite. Em termos globais a exploração de cromite mantém-se constante.

O zinco é essencial para todos os organismos, sendo um componente essencial de muitas enzimas. A sua produção total no mundo, entre 2010-2011 foi de 12.400.000 e 12.800.000 milhares de toneladas métricas, respectivamente (World Mineral Production, 2007-2011).

**Quadro 2.3:** Reservas mundiais e produção (minério e concentrado) de crómio nos principais países produtores (Dhal et al., 2013).

País	Reservas	Produção (milhares de toneladas métricas)				
		2007	2008	2009	2010	2011
Mundo (total aproximado)	>480000	23900	23600	18700	23700	24000
Índia	54000	4873	3980	3372	3800	3800
Cazaquistão	220000	3687	3552	3333	3830	3900
África do Sul	200000	9647	9683	6865	10900	11000
EUA	620	-	-	-	-	-
Finlândia	-	556	614	247		
Brasil	-	628	700	700		
Rússia	-	777	913	416		
Turquia	-	1679	1886	1770		
Zimbábue	-	614	442	194		
Outros países		1439	1829	1803	5170	5300

O **Quadro 2.4** apresenta a localização e produção das maiores reservas mundiais de mineral de zinco. Pode observar-se que a produção de minério de zinco tem aumentado nos últimos anos em termos globais.

**Quadro 2.4:** Produção de minério de zinco nos principais países produtores (World Mineral Production, 2007-2011).

País	Produção (milhares de toneladas métricas)				
	2007	2008	2009	2010	2011
Mundo (total aproximado)	11200000	12000000	11600000	12400000	12800000
Austrália	1514000	1519000	1290000	1480000	1516000
Cazaquistão	445000	446000	442000	459000	465000
China	3047700	3342600	3324400	3842200	4308300
Peru	1444354	1602597	1512931	1470450	1255899
EUA	803300	778100	735700	748000	769000
México	452012	453588	489766	570004	631859
Canadá	630485	750502	699145	648905	611577
República da Irlanda	400900	398200	385700	342500	344000
Índia	551268	647537	677824	726526	713416

De um modo global, a produção de metais pesados no mundo continua em forte expansão, aumentando-se assim, também as fontes de contaminação e disseminação nos ecossistemas do globo.

## 2.2. Disseminação dos metais pesados na ecosfera: riscos ambientais e sanitários

O uso de efluentes municipais, de fertilizantes, pesticidas e herbicidas, emissões de incineradoras de resíduos e automóveis, os resíduos das indústrias siderúrgica, metalúrgica e petroquímica, a mineração, a construção e a manufactura de componentes electrónicos, são exemplos de actividades humanas que induziram mudanças que decorrem a larga escala nos ambientes naturais, alterando a taxa de libertação de elementos na ecosfera, contribuindo de forma muito significativa para a perturbação, degradação, contaminação e poluição do ar (**Quadro 2.5**), sistemas aquáticos (**Quadro 2.6**) e dos solos em todo o mundo (Fergusson, 1991; Alloway, 1995; Garbisu e Alkorta, 2003; He et al., 2005; Kabata-Pendias, 2011). Esses factores e actividades, de forma isolada ou em conjunto induzem à marginalidade dos solos (Dauber et al., 2012). Também as tintas, os combustíveis fósseis, os adubos fosfatados, fungicidas, pesticidas, estrumes e chorumes podem emitir e/ou conter níveis elevados de metais pesados (Varennnes, 2003).

**Quadro 2.5:** Conteúdos de metais pesados na atmosfera, em diferentes localizações geográficas (ng.m<sup>3</sup>; Kabata-Pendias, 2011).

Elemento (ng.m <sup>3</sup> )	Europa				América		
	Polo Sul	Gronelândia	Noruega	Alemanha Ocidental	Japão	Norte	Central Sul
Cd	0.015	0.003-0.63	-	0.5-620	0.5-43	1-41	-
Cr	0.003-0.01	0.6-0.8	0.7	1-140	1.3-167	5-1100	1.2
Cu	0.03-0.06	-	2.5	8-4900	11-200	3-153	70-100
Ni	-	-	1.2	4-120	1-150	120	-
Pb	0.19-1.2	1.5-22	-	120-5000	19-1810	45-13000	0.2-317
Zn	0.002-0.051	18-41	10	550-16000	14-6800	88-741	60-182
(pg.m <sup>3</sup> )							25-1358

Tais actividades provocam a dispersão de muitos desses elementos na atmosfera, na forma de gases e partículas, que depois são depositados (deposição atmosférica) nos sistemas aquáticos e finalmente nos solos, onde podem ser acumulados em concentrações indesejáveis e eventualmente tóxicas para muitos organismos (Alloway, 1995). Enquanto os compostos orgânicos são degradados pelos organismos do solo, os metais pesados não podem ser destruídos. Assim, podem, no máximo, ser convertidos a formas menos móveis no solo, e por isso menos biodisponíveis para a cadeia trófica (assim como para espécies vegetais utilizadas na sua descontaminação; ver Capítulo 3). Contudo, tal significa, em simultâneo, que a contaminação de um solo com estes elementos pode ser quase irreversível. Os valores do Quadro 2.5 e Quadro 2.6 dão uma ideia dos conteúdos metálicos em circulação na atmosfera e

curtos de água, em todas as regiões do globo, assim como da alteração nos ciclos desses elementos provocada pelas actividades humanas.

**Quadro 2.6:** Conteúdos de metais pesados em sistemas fluviais ( $\mu\text{g/L}$ ) e médias globais dos fluxos de metais para os mares e oceanos ( $\text{kt.ano}^{-1}$ ) (Kabata-Pendias, 2011).

Elemento	Concentração em sistemas fluviais ( $\mu\text{g/L}$ )	Fluxos fluviais médios globais para os mares e oceanos ( $\text{kt.ano}^{-1}$ )
As	0.13-2.71	23
Cd	0.0006-0.42	3
Cr	0.29-11.46	5.5
Cu	0.23-2.59	55
Ni	0.35-5.06	30
Pb	0.007-3.8	3
Zn	0.27-27	23

São estas quantidades que, por diferentes actividades, em última instância se depositam nos sedimentos e nos solos. Durante o último século, as actividades humanas provocaram a dispersão e o aumento da concentração de metais no ambiente (Alloway, 1995; Papazoglou, 2007). O ritmo de libertação de metais por via antropogénica, assim como as respectivas quantidades, tem sido maior que o da reposição. O **Quadro 2.7** apresenta os conteúdos de metais pesados em fertilizantes, lamas e cinzas volantes, materiais que veiculam contaminação dos solos com estes elementos. Os tempos de residência dos metais no solo são muito superiores aos restantes sistemas da ecosfera. Por exemplo, os tempos de residência do Cd e Hg na atmosfera são 10 e 10-90 dias, e no solo são de 300-3000 e 900 anos, respectivamente (Varenes, 2003), e o Pb, que pode residir na atmosfera durante 20 a 30 dias, apresenta um tempo de retenção no solo na ordem dos 150-5000 anos (Kumar et al., 1995).

**Quadro 2.7:** Conteúdos de metais pesados nos fertilizantes, lamas e cinzas volantes ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) (Kabata-Pendias, 2011).

Elemento	Fertilizantes fosfatados ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Lamas ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Dejectos sólidos, provenientes de suinicultura ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Cinzas volantes ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )
Cd	0.11	2-1500	0.25	1.3
Cr	12	20-40600	11	118
Cu	109	50-3300	113	72
Pb	9.1	33-3000	2	52
Ni	11	16-5300	6.1	87.9
Zn	54	550-49000	680	221

As plantas podem absorver estes elementos, dependendo da sua forma e biodisponibilidade (**Figura 2.3**), translocando-os para os seus tecidos, introduzindo-os e transferindo-os na cadeia alimentar para os herbívoros e omnívoros – bioacumulação ou biomagnificação. Apesar dos metais pesados estarem presentes naturalmente na crosta terrestre em vários níveis e muitos metais serem essenciais para as células (ex: Cu, Fe, Mn, Ni e Zn), todos são tóxicos a elevadas concentrações (He *et al.*, 2005) e caso ocorra num meio onde ele seja indesejado, ou numa forma ou concentração superior à normal para o local, poderá provocar um efeito negativo nos



seres humanos e ambiente (McIntyre, 2003). O **Quadro 2.8** apresenta as principais fontes de poluição de Zn e Cr, assim como os principais riscos ambientais e sanitários associados. As principais vias de exposição aos metais, para os seres humanos são os alimentos, a água e o ar. Entre os metais pesados, o Cd merece uma atenção especial, devido à sua toxicidade potencial para os seres vivos a baixas concentrações e elevadas persistências no ambiente e seres vivos (Das et al., 1997).

**Quadro 2.8:** Principais fontes de poluição com Zn e Cr e riscos ambientais e sanitários (Fernando, 2005).

Elemento	Fontes de Poluição	Riscos ambientais e sanitários
Zn	Funções de Zn, combustão, tráfego, águas residuais, lamas residuais, fertilizantes, resíduos industriais e pesticidas.	Responsável por irritações na pele, em determinados sais é cancerígeno, algumas emissões gasosas ricas em Zn provocam problemas pulmonares, é tóxico para as plantas acima de 300 mg. kg <sup>-1</sup> no solo, provoca toxicidade em gado de pastoreio em solos muito ricos em Zn, pode ser tóxico para o Homem quando o seu consumo é elevado. DL <sub>50</sub> (rato) = 2.0 g. kg <sup>-1</sup> .
Cr	Indústria química, refractária e do aço, electrometalurgia, refinação de minérios, indústria metalúrgica, fundições de Cu, combustão de gás natural, petróleo e carvão, lamas residuais, incineração de resíduos, fertilizantes, cimenteiras, efluentes da cromagem, indústria têxtil e de curtumes.	Os compostos de crómio devem ser considerados como muito tóxicos. Alguns compostos de Cr (VI) são cancerígenos. O envenenamento causa irritações na pele, problemas hepáticos e renais. DL <sub>50</sub> (rato) = 0.18 g. kg <sup>-1</sup> .

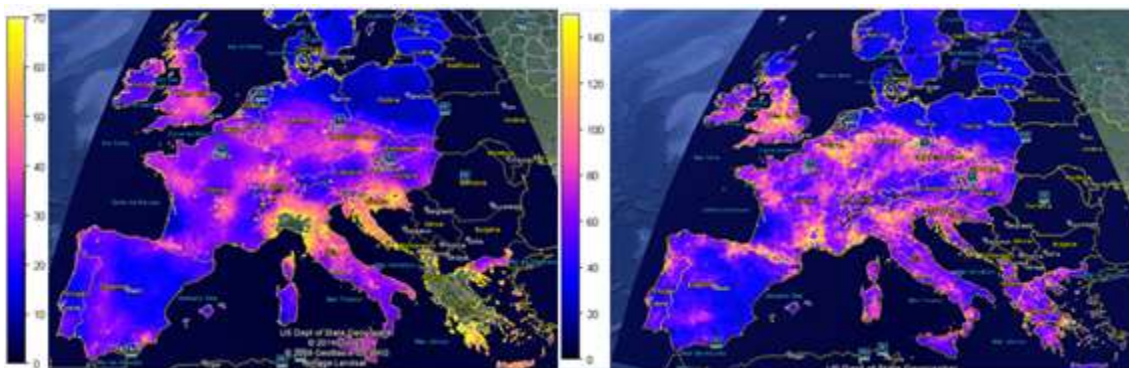
Os tempos médios de vida do Cd nos seres vivos rondam os 18 anos e 10 anos no corpo humano. Também o tabaco constitui uma via importante de Cd no Homem. A toxicidade com Cd traduz-se por perda de osso, anemia, hipertensão, dificuldades respiratórias e deficiência renal (Khlifi e Chaffai, 2010). A exposição crónica ao Pb origina problemas de aprendizagem nas crianças, anemia e doenças cardiovasculares. A via mais importante de contaminação com Hg é a ingestão de peixe e de mariscos, e a intoxicação com este metal provoca entre outros danos, paralisia, convulsões, perturbações da visão, dificuldades na fala e surdez (Pan e Wang, 2011). O Ni, embora seja essencial para as plantas a baixas concentrações, é tóxico a concentrações elevadas. O excesso de Mo em pastagens, sobretudo proveniente da aplicação de biossólidos, pode provocar molibdenose, que se traduzirá numa deficiência em Cu nos animais (Varennnes, 2003). O As é um poluente presente em todo o mundo, estando envolvido em ciclos ao nível da atmosfera, água, solo e plantas, devido a processos naturais e actividades antropogénicas. Existe sob diversas formas químicas, apresentando diferentes mobilidades, biodisponibilidades e toxicidades (Quanghebeur e Rengel, 2005; Bundschun et al., 2011). A sua detecção em águas superficiais de todo o mundo é preocupante, sobretudo se tivermos em consideração que essas são as principais fontes de abastecimento de água para consumo (Mirza et al., 2010; Mohan et al., 2007; Tripathi et al., 2007), tratando-se por esse motivo de um tema prioritário em termos de saúde pública (WHO, 1993a,b). A longa exposição a arsénio pode

causar diversas doenças, incluindo lesões na pele, cancro e diabetes (Quanghebeur e Rengel, 2005; Zhu e Rosen, 2009).

A ameaça colocada pelos metais pesados à saúde humana e animal é agravada pela sua elevada persistência no ambiente (Gisbert *et al.*, 2003). Não tendo em conta a origem dos metais no solo, níveis excessivos de muitos metais podem resultar na degradação da sua qualidade, na redução do rendimento das culturas, e na fraca qualidade dos produtos agrícolas (Long *et al.*, 2002) colocando riscos significativos ao Homem, animais e à saúde ecológica.

Existe muita disparidade nos números apresentados por diversos autores, no que concerne ao grau de exposição a metais pesados e número de pessoas afectadas (Pierzynski, 2000; McClintock *et al.*, 2011), um factor que é dependente do país e limites legais vigentes, assim como do autor consultado. São desconhecidos todos os fenómenos envolvidos na disseminação dos metais, assim como os respectivos aportes e taxas de transferência entre subsistemas do sistema terrestre, tornando impossível a quantificação dos efeitos dessa disseminação. Contudo, é um facto que muitos locais em todo o mundo estão poluídos, incluindo uma percentagem de terrenos agrícolas. Estima-se que na Bélgica, 1,4% da sua superfície total (28 000 ha) esteja contaminada (Meers *et al.*, 2005), enquanto, na Alemanha, 10000 ha de terrenos agrícolas estejam contaminados (Lewandowski *et al.*, 2006). Em muitas regiões da Grécia, verifica-se um elevado nível de contaminação dos solos com múltiplos metais, incluindo o Cd ( $66 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e Ni ( $73 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), provenientes de actividades de mineração intensa e metalúrgicas, que decorrem no local há mais de 2700 anos, embora existam evidências provenientes de locais limítrofes, de que os níveis naturais de Cd se devem à natureza da rocha-mãe (Papazoglou *et al.*, 2005).

A situação atinge hoje proporções preocupantes na América do Norte e Europa. Na **Figura 2.4**, indicam-se as áreas contaminadas com Cr e Zn (os metais em estudo) na Europa. Os valores máximos observados estão ainda distantes dos limites impostos no Decreto-Lei nº 276/09. Não obstante, são inúmeros os trabalhos científicos que reportam contaminação com metais pesados em outros continentes, causando os mais diversos efeitos: danos no DNA de animais e seres humanos, efeitos teratogénicos, implicações na cadeia alimentar e no funcionamento dos ecossistemas, afectação na qualidade do sémen humano, contaminação de diversos alimentos e diversos tipos de formas cancerígenas, reforçando a ideia de que nas mais industrializadas existe maior contaminação com metais pesados (McClintock *et al.*, 2011; Pan e Wang, 2011; Khelifi e Chaffai, 2010; Radwan e Salama, 2006; Bundschun *et al.*, 2011; Giaccio *et al.*, 2011; Zoche *et al.*, 2010; Videia *et al.*, 2009; Barbosa *et al.*, 2010; Lewis *et al.*, 2011; He *et al.*, 2005).



**Figura 2.4:** Áreas contaminadas com Cr (à esquerda) e Zn (à direita) ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) na União Europeia (<http://eusoils.jrc.ec.europa.eu/foregshmc/>).

Em Portugal o Decreto-Lei nº 276/09, de 2 de Outubro, estabelece o regime jurídico da utilização agrícola de lamas de depuração e demais legislação regulamentar, transpondo para a ordem jurídica interna a Directiva nº 86/278/CEE do Conselho, de 12 de Junho, relativa à protecção do ambiente e, em especial, dos solos na utilização agrícola de lamas de depuração, uma das vias de contaminação com metais pesados. No seu anexo estabelece para o território nacional os Valores Limite de concentração de metais pesados nas lamas (**VLCL**) destinadas a aplicação no solo agrícola, os Valores Limite para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos cultivados (com base numa média de 10 anos) (**VL10**) e os Valores Limite de concentração de metais pesados nos solos em função do seu pH (**VL pH**) (**Quadro 2.9**).

**Quadro 2.9:** Valores Limite de concentração de metais pesados nas lamas, destinadas a aplicação no solo agrícola, Valores Limite para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos cultivados, com base numa média de 10 anos, e Valores Limite de concentração de metais pesados nos solos em função do seu pH. Os valores de VLCL e VL pH estão expressos em  $\text{mg kg}^{-1}$  (matéria seca) e os de VL 10 em  $\text{kg ha}^{-1}\text{ano}^{-1}$  de (matéria seca).

Metal	VLCL	VL 10	VL pH		
			$\text{pH} \leq 5,5$	$5,5 < \text{pH} \leq 7$	$\text{pH} > 7$
Cd	20	0.15	1	3	4
Cu	1000	12	50	100	200
Ni	300	3	30	75	110
Pb	750	15	50	300	450
Zn	2500	30	150	300	450
Hg	16	0.1	1	1.5	2
Cr	1000	4.5	50	200	300

## 2.3. Factores que condicionam a mobilidade dos metais pesados nos solos

Os metais pesados podem estar presentes na estrutura dos minerais, adsorvidos aos colóides, formando quelatos com a matéria orgânica presente no solo, assim como estar em solução. Os minerais primários representam normalmente a principal fonte de metais pesados nos solos, que os vão libertando à medida que se meteorizam. As formas químicas presentes nos solos vão determinar o comportamento dos metais pesados. Vários catiões como o  $\text{Cd}^{2+}$ , o  $\text{Cr}^{3+}$ , o  $\text{Hg}^{2+}$  e o  $\text{Pb}^{2+}$  apresentam uma reactividade e mobilidade no solo semelhante à dos micronutrientes catiónicos. Outros darão origem a oxi-aniões, casos dos iões cromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ), arsenato ( $\text{AsO}_4^{3-}$ ), selenito ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ) e selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ), que apresentam um comportamento semelhante ao dos iões sulfato e fosfato. O **Quadro 2.10** apresenta as espécies químicas para alguns metais pesados na solução do solo e em corpos de água naturais (Prasad, 2004). Os factores que regulam a mobilidade dos metais nos solos são: a) a reacção do solo; b) o teor de minerais de argila e de compostos de ferro, alumínio e manganésio; c) a capacidade de troca catiónica; d) o teor de matéria orgânica; e) a presença de outros elementos; f) o potencial redox; e g) a metilação por microrganismos (Varennnes, 2003; Prasad, 2004). A mobilidade dos metais pesados, exceptuando o As, Mo e Se, é maior em solos ácidos que em solos neutros ou alcalinos, devido à diminuição da capacidade de troca catiónica no solo, da substituição dos elementos no complexo de troca por iões alumínio, da solubilização dos hidróxidos e carbonatos, e da menor adsorção química dos catiões a pH baixos (Fergusson, 1991; Prasad, 2004). Os colóides do solo, caso dos minerais de argila e compostos de ferro, alumínio e manganésio, fornecem locais de adsorção física e química, sendo que o seu teor está inversamente relacionado com a mobilidade dos metais pesados (Liphadzi et al., 2003; Varennnes, 2003; Jabeen et al., 2009).

A quelatação de metais pesados por pequenas moléculas, provenientes de exsudados ou da adição de materiais orgânicos ao solo, pode resultar na sua mobilização no solo, ficando mais disponíveis para absorção radicular (Liphadzi et al., 2003; Prasad, 2004). Contudo, com maior frequência, ocorre a redução da mobilidade provocada pela presença de matéria orgânica no solo. A presença de outros elementos influencia a biodisponibilidade dos metais pesados, uma vez que: a) estes terão de competir no solo pelos locais de adsorção, ou competir para a absorção pelas plantas; b) outros elementos poderão formar complexos solúveis com os metais; c) os metais pesados podem precipitar (Yoon et al., 2006). Condições oxidantes conduzem à dissolução dos sulfuretos e ao aumento da concentração de metais pesados no solo. Condições redutoras conduzem à dessorção dos elementos ligados ao Fe e Mn e à formação de sulfuretos que os removem da solução do solo. O potencial redox do solo afecta o comportamento do As,

Cr, Hg, Fe e Mn por influenciar os seus estados de oxidação (Varennnes, 2003; Costa, 2004; Jabeen et al., 2009).

**Quadro 2.10:** Formas químicas em que poderão surgir alguns metais pesados na solução do solo e em corpos de água naturais (Prasad, 2004).

Elemento	Solo	Solo Ácido	Solo Básico	Corpos de água naturais
Cd (II)	Cd <sup>2+</sup> CdSO <sub>4</sub> CdCl <sup>+</sup>	-	CdHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Cd <sup>2+</sup> CdCO <sub>3</sub> Cd(OH) <sub>2</sub>  CdS
Cr (III)	-	CrOH <sup>2+</sup>	Cr(OH) <sub>4</sub> <sup>-</sup>	-
Cu (II)	Cu-org	Cu <sup>2+</sup>	CuCO <sub>3</sub> CuB(OH) <sub>4</sub> <sup>+</sup> Cu[B(OH) <sub>4</sub> ] <sub>4</sub>	Cu <sup>2+</sup> CuCO <sub>3</sub> Cu(OH) <sub>2</sub> CuS
Ni (II)	Ni <sup>2+</sup> NiHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	NiSO <sub>4</sub> Ni-org	NiCO <sub>3</sub> NiB(OH) <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ni <sup>2+</sup> Ni(OH) <sub>2</sub> NiS
Pb (II)	Pb-org PbHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Pb <sup>2+</sup> PbSO <sub>4</sub>	PbCO <sub>3</sub> Pb(CO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> <sup>2-</sup> PbOH <sup>+</sup>	Pb <sup>2+</sup> PbCO <sub>3</sub> PbO <sub>2</sub> PbS
Zn (II)	Zn <sup>2+</sup> ZnSO <sub>4</sub> Zn-org	-	ZnHCO <sub>3</sub> <sup>+</sup> ZnCO <sub>3</sub> ZnB(OH) <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Zn <sup>2+</sup> ZnCO <sub>3</sub> ZnSiO <sub>3</sub> ZnS

### 2.3.1. Factores no solo que condicionam a mobilidade do zinco (Zn)

O estado do zinco na maioria dos solos é governado pelo material parental, processos de formação do solo e matéria orgânica (Kabata-Pendias, 2011). A fracção de argila, especialmente quando composta de vermiculita e gibbsita, contribui significativamente para o teor de Zn nos solos. A capacidade de sorção da matéria orgânica conduz à acumulação de Zn nos horizontes superficiais da maioria dos solos. A forma mais comum e móvel de Zn nos solos pensa-se estar na forma de iões livres e complexos na solução do solo, embora outras espécies iónicas, que ocorrem na forma catiónica, podem ser facilmente mobilizados no solo. Os principais factores que controlam a mobilidade do zinco nos solos, são semelhantes aos que regulam o Cu, mas para o Zn, ocorre em formas mais facilmente solúveis. A fixação de Zn ocorre de forma lenta e é governada pelo pH do solo. O tempo destas reacções, assim como outros processos de sorção podem também condicionar a mobilidade do Zn. Apesar de este elemento ser muito móvel na maioria dos solos, as fracções de argila e matéria orgânica são capazes de fixar o Zn fortemente, especialmente em regimes de pH neutro e alcalinos. Contudo, a matéria orgânica é o factor que mais condiciona a mobilidade de Zn em solos com pH 7-7.5. A imobilização de Zn nos solos é altamente controlada pelo fósforo e argilas. A fracção de argila controla até cerca de 60% de Zn nos solos (Kabata-Pendias, 2011). Aparentemente existem dois diferentes mecanismos na sorção de Zn: um em meio ácido e relacionado com a capacidade de troca catiónica; o outro, ocorrendo em meio alcalino, designado de quimissorção, enormemente influenciada por ligandos orgânicos. Para além do referido, óxidos e hidróxidos de Al, Fe e Mn parecem ter elevada

importância na imobilização de Zn em alguns solos. A goethite ( $\alpha\text{FeOOH}$ ) revela uma elevada afinidade na sorção de Zn. Os microrganismos reduzem este processo, devido à acumulação de metais nos seus tecidos celulares. A nucleação de hidróxido de Zn nas superfícies de argila, pode produzir uma imobilização do metal nos solos, que é fortemente dependente do pH. A adsorção de  $\text{Zn}^{2+}$  pode ser reduzida a pH mais baixo ( $<7$ ) por cátions que concorram pelo mesmo espaço, facilitando a mobilização e lixiviação de Zn em solos ácidos. A valores de pH mais elevados, apesar de um aumento de compostos orgânicos na solução do solo, torna-se mais evidente que os complexos formados entre esses compostos e o Zn contribuem para a solubilidade do metal. Em solos ácidos arenosos, pelo contrário, a matéria orgânica, parece ser a componente do solo mais importante na imobilização de Zn, enquanto óxidos de Al, Fe e Mn parecem ter menor importância. O Zn do solo associa-se principalmente a óxidos de Fe e Al hidratados (14-38% do zinco total) e a minerais argilosos (24-63%). As suas fracções móveis (1-20%) e os complexos com compostos orgânicos (1.5-2.3%) são menos comuns. O Zn parece ter maior adsorção com os óxidos de Fe, com a haloisita, alofano e imogolite, mas menor com a montmorilonita. Assim, os minerais de argila, óxidos hidratados e pH são provavelmente os factores que maior influência exercem no controlo da solubilidade de Zn nos solos, enquanto a complexação orgânica e precipitação de Zn com hidróxidos, carbonatos e compostos de sulfureto, parecem ter menor importância. O Zn pode entrar em algumas estruturas silicatadas, como com a montmorilonita, e permanecer bastante imobilizado. A matéria orgânica é conhecida por ser capaz de se ligar ao Zn em formas estáveis, e por conseguinte, a sua acumulação em horizontes orgânicos, assim como de algumas formas de turfas, pode observar-se. Contudo, as constantes de estabilidade dos complexos matéria orgânica-Zn nos solos são relativamente baixas, apesar da elevada proporção de Zn ligado à matéria orgânica dos solos minerais. Por exemplo, podem encontrar-se teores mais elevados de Zn em zonas húmidas ( $96.1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) que em solos florestais ( $30.8 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), devido aos teores mais elevados de matéria orgânica nos solos das zonas húmidas. Também a adição de lamas de depuração aos solos modifica o padrão de distribuição de Zn, aumentando de forma significativa os conteúdos de duas formas de Zn: a facilmente solúvel e a permutável. A gama de adsorção máxima de Zn, para diferentes solos, ronda as  $16\text{-}70 \text{ meq.g}^{-1}$  para amostras saturadas com Ca. Para diferentes solos saturados com cátions, a ordem de adsorção de Zn é a seguinte:  $\text{H} < \text{Ca} < \text{Mg} < \text{K} < \text{Na}$ . Na solução do solo, o Zn ocorre na forma de iões livres e complexados, como cátions:  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{ZnCl}^+$ ,  $\text{ZnOH}^+$ ,  $\text{ZnHCO}_3^+$ ; e como aniões:  $\text{ZnO}_2^{2-}$ ,  $\text{Zn(OH)}_3^-$ ,  $\text{ZnCl}_3^-$  (Kabata-Pendias, 2011). Também podem registar-se complexos formados entre a matéria orgânica (MO) e o Zn, na solução do solo. A concentração de Zn em solução em solos agrícolas varia entre  $12\text{-}223 \text{ }\mu\text{g.dm}^{-3}$ , enquanto em solos naturais varia entre  $13\text{-}72 \text{ }\mu\text{g.dm}^{-3}$ . Contudo, dependendo das técnicas para se obter a solução do solo, as suas concentrações podem variar entre  $21\text{-}570 \text{ }\mu\text{g.dm}^{-3}$ . Em solos muito ácidos ( $\text{pH} < 4$ ) a concentração de Zn pode rondar os  $7137 \text{ mg.dm}^{-3}$  (Kabata-Pendias,

2011). Em Podzóis da taiga (Rússia) a concentração de Zn varia de 20-350 mg.dm<sup>-3</sup> sendo superior na parte superior. Embora o Zn seja altamente solúvel na solução de solos de turfas, ocorre principalmente em formas coloidais (até 60% do conteúdo total). Complexos orgânicos e inorgânicos de Zn representam até 40% das formas de Zn, enquanto as formas catiónicas são menos de 10%. A dessorção é o processo que mais contribui para a disponibilidade de Zn na solução do solo. O pH é um factor-chave na determinação da solubilidade, e portanto, da concentração de Zn no solo. O Zn é mais prontamente disponível e móvel em solos ácidos minerais. As fracções de Zn associadas a óxidos de Fe e Mn são mais disponíveis para as plantas. Os lixiviados ácidos são muitos activos na sua mobilização; assim, as perdas deste metal são observadas em determinados horizontes, particularmente em Podzóis e solos ácidos castanhos derivados de areias. A mobilização de Zn em solos ricos em Ca e P, em solos bem arejados com compostos de S, e em solos onde tenham sido adicionadas as quantidades de minerais de Ca saturados como o alofano, a imogolite e montemorilonita, bem como óxidos hidratados, apresenta um impacto prático importante na deficiência de Zn nas plantas. As deficiências em Zn resultam mais frequentemente de práticas de gestão utilizadas durante a produção agrícola, casos da calagem excessiva, fertilização fosfatada e emenda de matéria orgânica (Kabata-Pendias, 2011).

### **2.3.1. Factores no solo que condicionam a mobilidade do crómio (Cr)**

Uma vez que o Cr<sup>3+</sup> é ligeiramente mais móvel somente em meios muito ácidos, e a pH 5.5 quase precipita na totalidade, os seus compostos são bastante estáveis nos solos. Por outro lado, o Cr<sup>6+</sup> é muito instável nos solos e facilmente mobilizado quer em solos ácidos quer em solos alcalinos. Contudo, o Cr ocorre nos solos (> 80% do teor total) na fracção residual imóvel. A relação positiva entre o Cr e a fracção granulométrica no solo resulta num conteúdo mais elevado deste metal em solos limosos e argilosos que em solos arenosos. Os teores de Cr em solos limosos e argilosos do Chade rondam os 100-300 mg.kg<sup>-1</sup>, os 70-1100 mg.kg<sup>-1</sup> em solos argilosos da Nova Zelândia e os 152-384 mg.kg<sup>-1</sup> para solos florestais da Bulgária (Kabata-Pendias, 2011). A turfa exibe uma elevada capacidade de sorção para o Cr, na gama de valores de 24.250-52.800 mg.kg<sup>-1</sup>, ligando-o principalmente como um complexo metalo-orgânico insolúvel. Os estados de oxidação altamente variáveis de Cr permitem a formação de espécies complexas aniónicas e catiónicas. Os compostos de Cr que ocorrem naturalmente apresentam as valências principais +3 (crómico) e +6 (cromato). As formas de Cr altamente oxidadas são muito mais móveis que as espécies Cr<sup>3+</sup>, especialmente sob gamas muito ácidas e alcalinas de pH. As espécies iónicas complexas presentes no solo são: CrOH<sup>2+</sup>, CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, HCrO<sub>4</sub><sup>-</sup>, HCrO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, Cr(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup>, e Cr(CO<sub>3</sub>)<sub>3</sub><sup>3-</sup>. Em contrapartida, a espécie Cr(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub><sup>3+</sup> é considerada relativamente inerte uma vez que a hidratação é lenta. (Kabata-Pendias, 2011)

De acordo com a extensa informação referida no livro de Kabata-Pendias (2011), o Cr revela uma grande capacidade para formar vários tipos de complexos orgânicos. As espécies iónicas de crómio são altamente susceptíveis a processos de oxidação-redução que governem o comportamento deste metal nos solos. O pH do solo tem uma influência na especiação de Cr e na sua solubilidade. Em solos não contaminados (prístinos), a pH neutro, o Cr é ligeiramente móvel e, portanto, não está facilmente disponível para as plantas e para as quais pode induzir implicações nutricionais. Contudo, vários factores do solo, com destaque para as substâncias orgânicas têm um impacto crucial sobre as formas de Cr e respectivo comportamento no solo. Em condições naturais do solo, o potencial de oxidação do Cr parece estar directamente relacionado com o conteúdo de óxido de Mn. Sob o mesmo potencial redox (500 mV), o  $\text{Cr}^{3+}$  predomina a pH 5. A rápida conversão do estado de oxidação de Cr está intimamente associada com os processos de oxidação-redução de Fe e Mn nos solos. A redução de  $\text{Cr}^{6+}$  pode levar a dois tipos gerais de produtos: complexos de compostos orgânicos com a forma  $\text{Cr}^{3+}$  ou precipitados de hidróxidos de crómio, ou ainda a compostos do tipo  $\text{Cr}_{1-x}\text{Fe}_x(\text{OH})_3$ . Contudo, a redução biológica ou a redução por moléculas orgânicas tem o potencial de formar complexos orgânicos solúveis com a forma  $\text{Cr}^{3+}$ . O comportamento do Cr nos solos pode ser modificado por complexos orgânicos de Cr, contudo, o efeito dominante da matéria orgânica é a estimulação da redução de  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$ . O Fe de origem biogénica ( $\text{Fe}^{2+}$ ) está também envolvido na redução do  $\text{Cr}^{6+}$ . Substâncias orgânicas como lamas de depuração adicionadas ao solo (limo argiloso, pH 6.1) causam aumentos significativos nas espécies de Cr – associadas com óxidos hidratados e ligados à matéria orgânica. A sorção de Cr no solo está principalmente associada com os conteúdos de argila, e em menor extensão, com os hidróxidos de Fe e com a matéria orgânica do solo. Contudo, o impacto da matéria orgânica do solo na conversão, e particularmente, na redução de  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  é de grande importância ambiental, onde o equilíbrio de troca com o Mn e matéria orgânica disponível é controlado pelo pH. O pH ajuda a definir a reactividade de oxidação do óxido de Mn em relação às propriedades redutoras da matéria orgânica e outros componentes como o Fe e o S. A variabilidade dos iões de Cr é afectada pelo potencial de oxidação-redução dos solos com diferentes resíduos, particularmente aqueles que contêm matéria orgânica. As formas e transformações do Cr nos solos têm grandes implicações ambientais e na saúde, como vimos. Em solos ultramáficos, onde uma grande parte do Cr ocorre nas fases insolúveis, este elemento estava presente em solução, sob vegetação natural, na faixa de  $2.7\text{-}10\ \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , enquanto sob culturas agrícolas, devido aos efeitos de adubos fosfatados, as concentrações atingiram as  $700\ \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Actividades de enzimas microbianas do solo diminuem com o aumento dos níveis de Cr no solo. A actividade da desidrogenase e do processo de nitrificação são especialmente sensíveis. Compostos de Cr hexavalente induzem um forte efeito mutagénico no *Bacillus subtilis*, enquanto compostos de Cr trivalente são apenas ligeiramente mutagénicos para a mesma espécie microbiana. A resposta à segunda forma de crómio referida



é dependente da espécie de microorganismo. Os efeitos tóxicos do cromato nas bactérias devem-se aos danos oxidativos nas biomoléculas. Vários microorganismos são resistentes ao  $\text{Cr}^{6+}$  devido a processos de redução do crómio. (Kabata-Pendias, 2011).

Estes conhecimentos são essenciais antes da implementação de um projecto de fitorremediação num solo que apresente contaminação metálica por uma ou mais destas espécies, uma vez que o seu comportamento no solo será distinto, sendo obviamente distinto o mecanismo de remediação a aplicar. Com base no que foi descrito neste ponto, faz todo o sentido pensar na implementação de tecnologias que se destinem a inverter e controlar este processo de ampla disseminação dos metais, e respectivos efeitos nocivos em inúmeros corpos receptores, caso da tecnologia de fitorremediação.

### 3.Fitorremediação de solos contaminados com metais pesados utilizando culturas energéticas

Face à ampla disseminação de metais pesados em todos os ecossistemas do mundo e aos riscos que podem acarretar para a saúde pública mas também para o normal funcionamento dos ecossistemas, e no caso dos ecossistemas agrícolas, em que a área de solos contaminados deixa de estar disponível para a produção de culturas agrícolas alimentares, é estritamente necessário encontrar soluções que promovam a sua descontaminação e normal funcionamento, se possível, de forma economicamente rentável. Diversos tipos de tecnologias têm sido utilizados nos últimos anos para remediar solos contaminados com metais pesados. As técnicas físico-químicas encontram-se entre as mais vulgarizadas. O **Quadro 3.1** apresenta de forma breve os tratamentos aos solos, conferidos por essas tecnologias.

**Quadro 3.1:** Tecnologias físico-químicas mais aplicadas na descontaminação dos solos (Kabata-Pendias, 2011).

Tecnologia	Descrição
Escavação	O solo contaminado é removido e descartado noutro lugar (aterros sanitários, por exemplo). Envolve elevados custos e pode envolver contaminação das águas subterrâneas.
Remoção	O solo contaminado é exposto a extracção química e/ou a tratamento térmico para remoção de elementos voláteis ou compostos, e a processos de lixiviação e imobilização. Apresenta elevados custos.
Imobilização	Neste processo ocorre a imobilização de metais pesados: óxidos de Fe/Mn adsorvem ou ocluem vários metais pesados; compostos fosfóricos diminuem a mobilidade da maior parte dos metais ou mediante a utilização de outros substratos, como os minerais de argila, Carbonatos e os zeólitos.
Encapsulação	Cobertura de pequenos locais do solo com uma camada de material de baixa permeabilidade (por exemplo, argila) para evitar a infiltração da água e poeiras.
Isolamento/contenção	Minimização da lixiviação de poluentes pela instalação de barreiras sub-superficiais: camadas de argila; camadas organo-barrosas; cobertura de plástico.
Vitrificação	Os poluentes são imobilizados com corrente eléctrica. É raramente usado e envolve elevados custos.
Solidificação/Estabilização/Imobilização	Alterações no solo com materiais com elevada capacidade de ligação a fracções pouco móveis dos metais e/ou imobilização, mantendo o pH do solo neutro. Para a eficácia requerida em alguns locais é uma tecnologia demasiado dispendiosa.
Lavagem	O solo é lavado com água ou com um surfactante. Não é uma tecnologia muito aplicada, limitada devido às elevadas necessidades de água. Os resultados são muito dependentes dos parâmetros físicos do solo.
Biodegradação	Substâncias contendo metais pesados são decompostas devido à acção microbiana, os metais são mobilizados e lavados. Tem efeito a longo prazo. É praticada em locais específicos.

Para além das tecnologias referidas no Quadro 3.1 a tecnologia de oxidação e redução química é também usada na descontaminação de solos contaminados com diversos tipos de contaminantes. Não obstante, as tecnologias descritas são dispendiosas, podendo não constituir a opção mais atraente, especialmente quando não existem riscos óbvios para as populações (Fernando, 2005), envolvendo em alguns casos a remoção do solo, desconsiderando a possibilidade de preservação de algumas das suas propriedades e características, assim como diversas relações bióticas e abióticas com as quais este ainda possa manter. Este capítulo dá um especial destaque à

tecnologia de fitorremediação, uma tecnologia ecologicamente sustentável e economicamente mais atraente (Raskin *et al.*, 1994; Mulligan, *et al.*, 2001), sendo menos dispendiosa, e que recorre à utilização de vegetação, *in situ*, e microrganismos associados à sua rizosfera, na remoção de poluentes de solos contaminados (Fernando e Oliveira, 2004a).

### **3.1. A tecnologia de fitorremediação: características das plantas hiperacumuladoras de metais**

Algumas plantas apresentam a capacidade de absorver, translocar e acumular metais nas suas componentes subterrâneas e aéreas, podendo ser utilizadas para os remover de meios contaminados, mediante uma tecnologia conhecida por fitorremediação (Baker, 1981; Cunningham e Ow, 1996; Baker *et al.*, 2000; Bañuelos *et al.*, 2000; Tzanakakis *et al.*, 2009; Mudhal *et al.*, 2010). Trata-se de um campo de pesquisa que tem vindo a merecer uma crescente atenção de inúmeros pesquisadores da área ambiental, devido ao facto de se apresentar como ambientalmente sustentável, segura e economicamente eficiente. Apresenta ainda um interesse adicional, relacionado com a possibilidade de recuperação do metal mediante a remoção da planta (ou das suas fracções aéreas, no caso de culturas perenes), durante a sua época de colheita (Mirza *et al.*, 2011). Aplica-se a meios como: solos contaminados, lamas, sedimentos, águas subterrâneas, águas superficiais, águas residuais e ao ar (Pivetz, 2001). Nesta abordagem, e para o caso dos poluentes se tratarem de metais pesados, são usadas espécies que possam tolerar elevadas concentrações de metais – plantas hipertolerantes – e/ou espécies que possam acumular elevadas concentrações de metais nos seus tecidos – plantas hiperacumuladoras. Estas plantas irão actuar na fracção biodisponível de metais pesados presente no solo, que é dependente de vários factores que condicionam a sua mobilidade (ver capítulo 2).

Muitas pesquisas têm-se debruçado sobre os processos fisiológicos envolvidos na hiperacumulação de metais pesados em diferentes plantas. As plantas podem estar protegidas externamente contra os metais, ou então tolerar elevadas concentrações de metais nos seus tecidos, mediante mecanismos fisiológicos específicos que conduzem à sua minimização (Baker, 1987). Assim, impedem ou minimizam a extracção de metais ao nível da membrana plasmática das células das raízes; ou toleram a concentração de metais, mediante acumulação ao nível do simplasma (Quaghebeur e Rengel, 2005).

Têm sido propostas muitas hipóteses para dar explicação ao papel que poderá desempenhar uma elevada concentração de metais ao nível das folhas de espécies hiperacumuladoras de metais (Boyd, 2007): tolerância aos metais, resistência à seca, interferência com plantas da vizinhança, e, defesa contra inimigos naturais. A hipótese que tem atraído maior atenção sugere que as elevadas concentrações de metais pesados nos tecidos aéreos podem funcionar como estratégia

de auto-defesa contra herbívoros e patogénicos. Os metais pesados podem proporcionar protecção contra uma variada gama de inimigos que as plantas encontrem em situações naturais, contudo, outras também poderão permanecer disponíveis para a alimentação de herbívoros, apesar da sua composição elementar.

Actualmente a pesquisa está direccionada quer para a descoberta de espécies com essas características, como para a manipulação genética de hiperacumuladoras. Principalmente no segundo caso, é fundamental determinar os mecanismos moleculares da acumulação de metais, dado que a maioria das plantas hiperacumuladoras identificadas até à data apresentam sistemas radiculares que penetram a baixas profundidades, exibindo produtividades reduzidas. Plantas hiperacumuladoras de populações naturais são plantas que tipicamente contêm mais de 1000 mg.kg<sup>-1</sup> (0.1% da matéria seca) de Co, Cu, Cr, Pb e Ni, ou mais de 10000 mg.kg<sup>-1</sup> (1% da matéria seca) de Mn ou Zn (Prasad, 2004). As estratégias usadas no desenvolvimento de um plano de fitorremediação são: a) pesquisa de plantas hiperacumuladoras com as características requeridas à tecnologia de fitorremediação; b) breeding de plantas; c) desenvolvimento e melhoria de hiperacumuladoras usando ferramentas da engenharia genética (Jabeen et al., 2009).

A hiperacumulação de metais pesados pelas plantas superiores é um fenómeno complexo, que envolve uma série de etapas, como: a) o transporte de metais através da membrana plasmática das células da raiz; b) o seu aporte e translocação ao nível do xilema; c) a desintoxicação e sequestro de metais ao nível da planta, para determinadas fracções, ou ao nível celular (Lombi et al., 2001). De um modo geral, a capacidade de acumulação de um determinado metal é determinada pela capacidade de extracção e pelo transporte intracelular na planta. Os processos gerais que se pensa influenciarem as taxas de acumulação de metais nas plantas são: 1) bioactivação ao nível da rizosfera, uma interacção entre a raiz e microrganismos; 2) absorção e compartimentação ao nível da raiz, envolvendo transportadores, canais e agentes quelantes do citoplasma – as fitoquelatinas; 3) transporte no xilema – carregamento do simplasma e troca iónica; 4) distribuição e sequestro para a faixa na parede celular, sequestro para o vacúolo e quelatação citoplasmática (Yang et al, 2005).

O grau de extracção e acumulação para um determinado metal, e para uma determinada espécie de planta, é dependente do coeficiente de fitoextracção (Kumar et al., 1995), uma razão entre a massa de metal extraída por massa de biomassa seca da planta utilizada (**Quadro 3.2**).

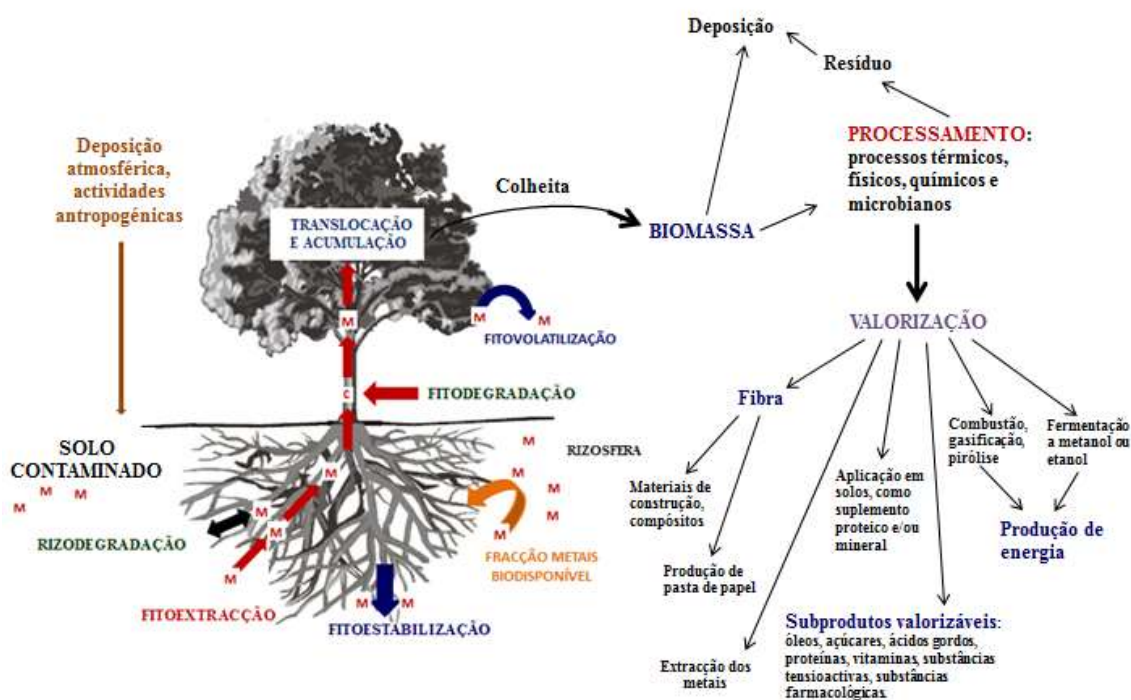
**Quadro 3.2:** Coeficientes de fitoextração para alguns metais pesados, utilizando *Brassica juncea* (Kumar et al., 1995).

Metal	Coeficiente de fitoextração
Cr <sup>6+</sup>	58
Cd <sup>2+</sup>	52
Ni <sup>2+</sup>	31
Cu <sup>2+</sup>	7
Pb <sup>2+</sup>	1.7
Cr <sup>3+</sup>	0.1
Zn <sup>2+</sup>	17

As plantas ideais para a fitorremediação deverão apresentar: a) crescimento rápido; b) apresentar um elevado rendimento de biomassa; c) um sistema radicular extenso e profundo; d) facilidade de extração na colheita; e) tolerar e acumular vários metais pesados nas respectivas frações aéreas; f) apresentarem técnicas agronômicas conhecidas (Yang et al., 2005; Papazoglou, 2014). Assim, as plantas hiperacumuladoras de metais apresentam um baixo potencial de exploração, dada as baixas produtividades associadas (Chaney et al., 1997). O ideal é assim, encontrar e aplicar nos terrenos contaminados, espécies de crescimento rápido que apresentem elevados rendimentos na sua biomassa, que apresentem sistemas radiculares profundos e bem desenvolvidos e que das quais se detenha já algum conhecimento agronômico. Para além disso, essas espécies vegetais devem possuir se possível, elevadas eficiências do uso de recursos como água e nutrientes, elevada tolerância a pragas, elevada capacidade adaptativa às condições edafo-climáticas do local de fitotratamento, assim como baixas exigências ecológicas. Se, aliada a todas essas características, a sua biomassa puder ser valorizada para fins comerciais, nomeadamente para fins energéticos, para o mercado de fibra ou outros bioprodutos, caso dos bioplásticos, a sua produção em solos contaminados e outros solos marginais (Dauber et al., 2012) constitui uma opção viável e necessária, sobretudo se atendermos a uma lógica de gestão integrada dos recursos disponíveis. Tal conceito enquadra-se na lógica de biorefinaria, na qual se procura o uso integral da biomassa, no caso produzida por plantas usadas na fitorremediação de meios contaminados, de um modo sustentável para a produção de biocombustíveis, energia, materiais e químicos com elevado valor incorporado (Prasad, 2014). O próximo ponto justifica a aplicação das culturas energéticas na fitorremediação de solos contaminados e outros solos marginais, os tipos de produtos que podem ser produzidos com as biomassas dessas culturas, que espécies vegetais são já testadas, os mecanismos de fitorremediação que utilizam e os principais resultados da implementação dessas culturas em solos e outros meios contaminados.

### 3.2. Culturas energéticas utilizadas na fitorremediação – principais mecanismos e resultados

A crescente demanda por biomassa para produção de bioenergia, e em particular a produção de culturas energéticas, tem vindo a gerar variados conflitos pelo uso da terra. Tais conflitos podem ser resolvidos mediante segregação espacial da área de produção das culturas para energia, para as chamadas áreas excedentárias (*surplus land*), que englobam variados tipos de terrenos marginais, entre os quais os contaminados com metais pesados (Dauber et al., 2012). Simultaneamente, as mesmas culturas aí produzidas, podem contribuir para a valorização e remediação desses terrenos, mediante a produção de vários produtos (**Figura 3.1**), e dado que possuem diversos mecanismos que podem contribuir para a degradação, acumulação, dissipação ou imobilização do contaminante (Pivetz, 2001; EPA, 2000; Lázaro et al., 2006; Mirza et al., 2011). Cada cultura e mecanismos associados são aplicados de acordo com a natureza do corpo contaminado, do elemento metálico e grau de contaminação locais, condições edafo-climáticas locais e lógicas de natureza socioeconómica locais.



**Figura 3.1:** Aplicação da tecnologia de fitorremediação utilizando culturas energéticas e respectivos mecanismos na descontaminação de solos contaminados e produção de biomassa para vários fins (Adaptado de EPA, 2000 e Fernando, 2005).

As culturas energéticas e de fibra, ou também designadas de culturas industriais, apresentam particulares diferentes de espécie para espécie, mas de um modo geral, a sua introdução em terrenos contaminados apresenta diversas vantagens comuns, tratando-se de culturas anuais ou perenes.

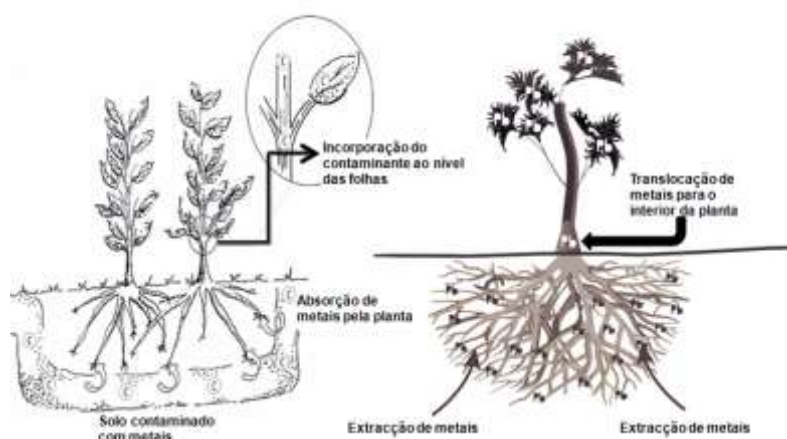
As culturas anuais quando cultivadas em terrenos marginais, desertificados ou degradados podem melhorar a fertilidade e estrutura do solo, aumentar os conteúdos em matéria orgânica, ajudar no controlo da erosão e aumentar a diversidade biológica e paisagística (Fazio e Monti, 2011; Fernando et al, 2010b; Finnan e Styles, 2013; Zegada-Lizarazu e Monti, 2011). De um modo geral, apresentam baixos custos de implementação, podendo ser cultivadas em sistemas de rotação de culturas com outros tipos de culturas (obviamente, não em terrenos contaminados, quando em rotação com culturas alimentares). A sua inserção num sistema de rotação de culturas pode aumentar o rendimento e rentabilidade do solo com o tempo, promover o controlo de doenças e pragas no local, por aumento da diversidade biológica e paisagística, assim como proporcionar uma fonte de biomassa para fibra, bioenergia e outros bioprodutos. Estas plantas podem também ser introduzidas como estratégia de mitigação e combate à desertificação, pois apresentam baixos usos de água e nutrientes, por possuírem um valor comercial para uma determinada região, por envolverem poucos problemas para os ecossistemas naturais, por não apresentarem competição com a produção de culturas alimentares, e por poderem ser integradas numa estratégia de gestão de resíduos (Laraus, 2004; Kassam et al., 2012; Norton-Brandão et al., 2013). Por exemplo, estas culturas podem ser implementadas numa região desertificada e a sua fertirrigação contemplar o uso de recursos como as águas residuais domésticas (Barbosa et al., 2014).

Comparadas com as culturas anuais, as perenes oferecem vantagens ecológicas adicionais, proporcionando uma maior variedade de serviços ecológicos como: maior cobertura vegetal, maior permanência no solo, podem limitar a erosão, possuem baixa susceptibilidade a doenças, reduzidas necessidades de pesticidas, e, devido ao seu sistema radicular extenso e profundo, possuem elevadas eficiências de uso de recurso como a água e de nutrientes, e de minimização de contaminação por lixiviação (Fernando, 2005; Fernando et al., 2010a e b; Zhang et al., 2011).

### **3.2.1. Mecanismos que conduzem à acumulação de metais pesados na biomassa vegetal**

A acumulação consiste na contenção no tecido vegetal de contaminantes orgânicos e/ou inorgânicos (como os metais), removidos do solo, e que envolve os mecanismos de **fitoextracção** (Figura 3.2) e/ou de **rizofiltração** (Pivetz, 2001).

A fitoextração é um processo comum de fitorremediação que envolve a extração do contaminante pelas raízes das plantas, estabelecidas mediante práticas agrícolas comuns, com subsequente acumulação nas suas partes aéreas, sendo seguida geralmente da colheita e disposição/tratamento da biomassa da planta (Mirza, et al., 2011). Contudo, trata-se de um mecanismo somente aplicável a locais que contenham níveis baixos a moderados de concentração metálica (Padmavathiamma e Loretta, 2007). Em determinados casos, agentes quelantes são adicionados para solubilizar metais que apresentem baixa solubilidade na solução do solo (Prasad, 2003). O sucesso da fitoextração depende da capacidade da planta para acumular biomassa rapidamente e para armazenar elevadas quantidades dos metais extraídos nos seus tecidos aéreos. A capacidade que as plantas possuem para permanecerem em condições difíceis do solo (isto é, pH do solo, salinidade, estrutura do solo e conteúdo em água) assim como produzir sistemas radiculares profundos, são igualmente importantes. A fitoextração está geralmente limitada pelo alcance das raízes, sendo que a profundidade determina a zona onde a extração é eficaz. As regiões mais próximas da superfície são aquelas onde ocorre maior extração.



**Figura 3.2:** Mecanismo de fitoextração. Adaptado de EPA (2000) e Andrade *et al* (2007).

Diversas culturas energéticas apresentam este mecanismo, evidenciando bons resultados nesta aplicação. Hammer et al. (2003) testaram a fitoextração de metais pesados (Cd e Zn) em dois tipos de solos contaminados, um calcário (durante 5 anos) e outro ácido (2 anos) com *Salix viminalis*. A planta obteve melhores performances no solo ácido, observando-se uma maior produção de biomassa e maiores concentrações de metais ao nível das suas partes aéreas. A adição de enxofre elementar ao solo não provocou nenhuma melhoria ao nível do rendimento da planta, mas a aplicação de Fe sob a forma quelatada, aumentou a produção de biomassa. As concentrações de Cd e Zn foram significativamente maiores ao nível das folhas, que ao nível dos caules. Em ambos os solos, a concentração na fracção aérea da planta foi diminuindo com o



tempo. Meers et al. (2007) testaram a fitoextração com cinco clones de salgueiro, em solos contaminados com Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn. Em solos onde os teores em metais eram baixos, e não considerados relevantes pela legislação belga, podem ser anualmente extraídas 5-27 kg.ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> de Zn e 0,25-0,65 kg.ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> Cd. Existe especificidade entre clones de salgueiro no que concerne à capacidade de fitoextração de Cd, assim como na distribuição do metal entre caules e folhas (Klang-Westin e Perttu, 2002; Mleczek et al., 2010).

Arduini et al. (2006b) testaram a fitoextração de Cr (50-200 mg.dm<sup>-3</sup>) durante o período de maior crescimento de *Miscanthus sinensis* L. var. *Giganteus*. A produção de biomassa aérea foi mais afectada que a biomassa obtida ao nível radicular, contudo, a adição de 100 mg.dm<sup>-3</sup> [Cr (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] induziu uma alteração profunda na morfologia das raízes. A 150 mg.dm<sup>-3</sup> Cr a produção de raízes laterais foi inibida, e o seu comprimento total e biomassa foram reduzidos, enquanto, quer o diâmetro médio das raízes, quer o volume radicular aumentaram significativamente. Nos caules e folhas verdes, atingiu-se maior concentração de Cr a 200 mg.dm<sup>-3</sup>, enquanto nas folhas, rizomas e raízes mortos, tal foi constatado a 150 mg.dm<sup>-3</sup>, tendo depois decrescido. À medida que o metabolismo da planta saía afectado (150 mg.dm<sup>-3</sup>) com as aplicações de Cr, ocorria imobilização do metal no rizoma, talvez por precipitação como um sal simples ou na forma complexada com proteínas ou ainda carboidratos (nos vacúolos). A concentrações superiores a 50 mg.dm<sup>-3</sup>, passou a ocorrer também imobilização nos caules, com concentrações de Cr muito superiores às das folhas verdes. Com mais adição de Cr, pôde observar-se um mecanismo adicional de desintoxicação no *Miscanthus*, no qual a planta começa a acumular Cr nas folhas mortas (acima de 150 mg.dm<sup>-3</sup>). A translocação de Cr para órgãos senescentes é um processo activo, posto em prática pela planta na presença de condições tóxicas extremas. Também Arduini et al (2004) e Arduini et al. (2006a) registaram uma afectação de vários processos fisiológicos da planta em resposta ao Cd. Contudo, Fernando (2005) perante contaminação individualizada com Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn e Cr e, em outros ensaios com lamas contaminadas com esses metais, verificou que a mesma espécie é capaz de acumular e bioconcentrar na sua biomassa os metais pesados do meio de crescimento, numa perspectiva de eficiência fitoextractora. A maior proporção dessa contaminação, contudo, permaneceu nos rizomas e raízes.

Borghi et al. (2007) investigaram a tolerância e fitoextração de Cu em choupos (*Populus x euramericana* clone Adda). A 20 µM Cu não se verificou nenhuma redução no crescimento, nem nas áreas foliares, apresentando elevados teores em clorofila e elevados potenciais fotossintéticos. A planta acumulou mais na raiz e a elevadas concentrações de Cu (500-1000 µM), o clone Adda apresentou sintomas de clorose foliar e diminuição da eficiência fotossintética. O mecanismo de fitoextração é dos mais estudados. Vários autores testaram

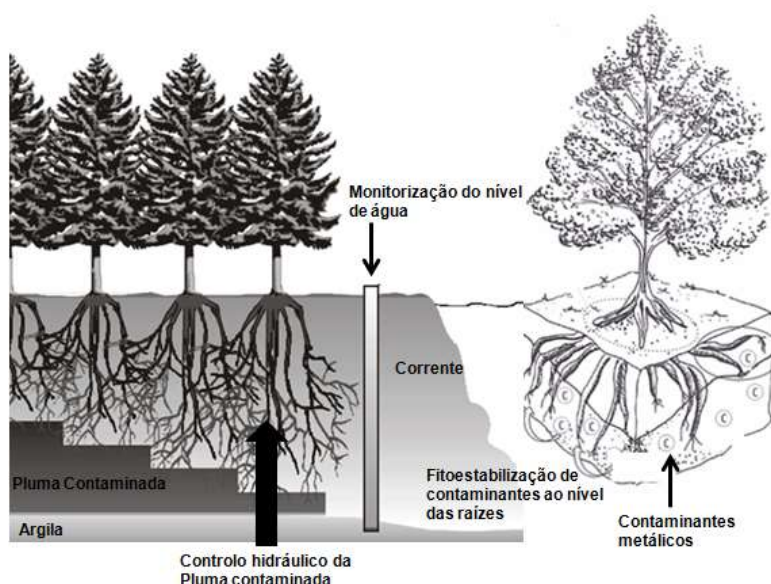
culturas como o linho, cânhamo, cardo, purgueira (*Jatropha curcas*), rícino, soja, girassol, milho, choupo, trigo, *Brassica juncea*, sorgo, cártamo e colza na fitoextração de Cd, Ni, Cu, Fe, Pb, Mn, Zn e Au obtendo resultados com sucesso (Baker, 1987; Hinchman et al., 1995; Zayed et al., 1998; Baker et al., 2000; Linger et al., 2002; Liphadzi et al., 2003; Marchiol et al., 2004; Odjegba e Fasidi, 2004; Ghosh e Singh, 2005a; Kumar et al., 2008; Epelde et al., 2009; Chandra et al., 2009; Shi e Cai, 2009; Yadav et al., 2009; Meers et al., 2010; Corral et al., 2011; Papazoglou, 2011).

O mecanismo de rizofiltração remete para a capacidade das raízes de determinadas plantas extraírem e sequestrarem contaminantes metálicos, ou excesso de nutrientes presentes em substratos aquosos, como as águas residuais (fitodepuração). Esta técnica difere da fitoextração pelo facto de acumular os contaminantes somente nas raízes e das plantas terem sido propagadas por hidroponia. É aplicável à remediação de metais como Pb, Cd, Ni, Cu, Cr, V e radionuclídeos (U, Cs e Sr). As plantas ideais à rizofiltração deverão: a) produzir quantidades significativas de biomassa de raiz ou significativas áreas radiculares; b) ser capazes de acumular ou tolerar quantidades significativas de metais que se pretendem extrair (*target metals*); c) envolver fácil tratamento da biomassa e baixos custos de manutenção da cultura, e d) produzir quantidades mínimas de materiais que envolvam tratamento (EPA, 2000). As plantas terrestres são mais indicadas para a rizofiltração, devido ao facto de produzirem sistemas radiculares longos, mais extensos e substanciais, e muitas vezes mais fibrosos, possuindo maiores superfícies de absorção. A rizofiltração pode ser aplicada *in situ* para remediar corpos de água superficiais, ou *ex situ*, mediante o qual se utiliza um sistema de tanques onde são introduzidas plantas que tratam águas contaminadas. A comercialização desta tecnologia é dirigida quer por vantagens económicas, quer por vantagens técnicas, como a aplicabilidade a uma elevada gama de metais poluentes, a capacidade para tratar elevados volumes de água, limitadas exigências de produtos químicos, e a probabilidade de ser regulamentada (por legislação) e de ser aceite publicamente (Dushenkov et al., 1995). É geralmente aplicável a baixas concentrações do contaminante apresentando problemas na descontaminação de solos, sedimentos e lamas, uma vez que os contaminantes necessitam de estar em solução para que possam ser extraídos pela planta.

### **3.2.2. Mecanismos que conduzem à imobilização de metais pesados na biomassa vegetal**

A imobilização de contaminantes consiste na contenção do contaminante (orgânico e/ou inorgânico) e envolve os mecanismos de **fitoestabilização** e **controlo hidráulico** (Pivetz, 2001) (**Figura 3.3**). Para efeitos do presente trabalho, consideramos a fitoestabilização como um

mecanismo que confere também o controlo hidráulico do contaminante. No mecanismo de fitoestabilização, as plantas são usadas para transformar metais tóxicos presentes no solo, em formas menos tóxicas (Eapen e Dsouza, 2005), por indução de mudança na especiação do metal, de forma a aumentar a sua biodisponibilidade para adsorção no sistema radicular, imobilizando/estabilizando os metais, ou por libertação para o solo de compostos que ao precipitarem ou complexarem os metais concorrem para a sua estabilização/imobilização (Fernando, 2005). A fitoestabilização conta com a transpiração e com o crescimento das raízes que estabilizam os contaminantes física e quimicamente através da adsorção radicular; efectua a prevenção contra as vias de erosão hídrica e eólica; proporciona o controlo hidráulico da migração vertical de contaminantes para os aquíferos e lençóis de água (lixiviação); cria um ambiente aeróbio na região das raízes, onde libertam compostos orgânicos (exsudados), que se podem ligar aos contaminantes; favorecem a actividade microbiana na rizosfera, que em associação com as raízes podem acelerar a degradação de contaminantes orgânicos como pesticidas e hidrocarbonetos a formas não tóxicas (fitoestimulação); confere a retenção do contaminante ao nível da rizosfera mediante humificação ou lenhificação (Mirza et al., 2011; Andrade et al., 2007). A reinstalação de espécies vegetais aumenta a capacidade de restauração ecológica (EPA, 2000). A capacidade de imobilização de metais tóxicos de determinadas plantas, pode ser optimizada por operações no solo que conduzam ao aumento do pH e do teor de matéria orgânica do solo ou ligando determinados constituintes com fosfatos ou carbonatos, se se optar por não se efectuar nenhuma correcção do solo.



**Figura 3.3:** Mecanismo de fitoestabilização. Adaptado de EPA (2000) e Andrade *et al* (2007).

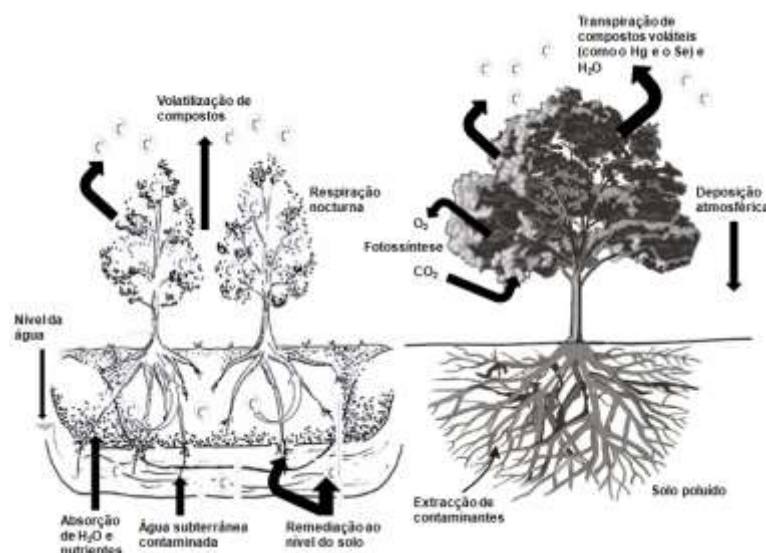
Este mecanismo pode ser mais eficiente em solos que apresentem textura fina, com elevados teores em matéria orgânica, e pode tratar uma variedade de superfícies contaminadas: solos,

sedimentos e lamas. Plantas com sistemas radiculares profundos podem reduzir a forma de Cr (VI) muito tóxica, a Cr (III), que é muito menos solúvel e menos biodisponível (James, 2001). As operações do solo devem conduzir a uma rápida fixação de metais, seguida da sua incorporação, ao passo que as alterações químicas deverão ser permanentes. As operações do solo mais importantes são a incorporação de: (a) fertilizantes fosfatados; (b) matéria orgânica no solo ou de biossólidos; (c) incorporação de oxihidróxidos de ferro e manganésio; e, (d) argila natural ou artificial; (e) combinação dessas operações. Ho et al. (2008) testaram kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) na fitoextração e fitoestabilização de Pb. O sistema radicular da planta acumulou até 20 mg Pb (por planta), mas as suas componentes aéreas não acumularam acima de 1 mg Pb (por planta). Não apresentou características das espécies hiperacumuladoras, comportando-se como tolerante (mecanismo de exclusão de metais). Assim, a planta pode ser útil na fitoestabilização de Pb, uma vez que imobiliza elevadas concentrações desse metal nas raízes. A planta é útil na combinação dos propósitos de restauração de locais degradados e produção de biomassa, especialmente em regiões tropicais. Vanek et al. (2006) testaram a fitoestabilização de elementos radioativos (I, U e Ra) com girassol (*Helianthus annuus* L.) tendo ocorrido absorção de urânio principalmente ao nível das raízes (eficiência de remoção de 24%), e translocação de rádio para a parte aérea (de 42% extraído do solo, 86% foi translocado – elevada eficiência de remoção do elemento do solo).

### **3.2.3. Mecanismos que conduzem à dissipação de metais pesados na biomassa vegetal**

O uso de plantas capazes de absorver contaminantes metálicos e de os converter em espécies químicas menos tóxicas, através da transpiração, é designado de **fitovolatilização** (mecanismo de dissipação) (**Figura 3.4**). Utilizam-se algumas variedades naturais de determinadas espécies de plantas, ou outras manipuladas geneticamente que apresentam a capacidade de absorver os metais pesados, de os converter em compostos voláteis no interior dos seus tecidos, e de os libertar na atmosfera.

Foi primariamente utilizada na remoção de mercúrio, onde os iões desse metal eram transformados em Hg na forma elementar, menos tóxica (Ghosh e Singh, 2005b). Algumas plantas, como a *Arabidopsis thaliana* e a *Brassica juncea* conseguem crescer em meios ricos em Se e produzir compostos voláteis como o dimetilselenídeo e o dimetildiselenídeo (Bañuelos et al., 2000), compostos que apresentam toxicidades de 500 a 600 vezes menores que as formas inorgânicas de Se, que se podem encontrar no solo. A fitovolatilização pode ser utilizada com sucesso na remoção de trítio (3H) (Dushenkov, 2003), mercúrio (Hg) (Rugh et al., 1996) e arsénio (Mirza et al., 2011).

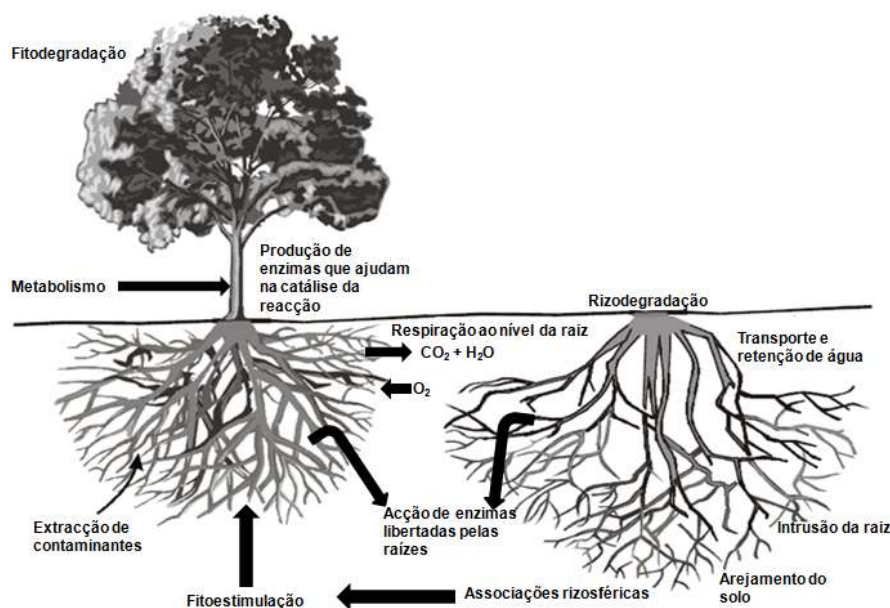


**Figura 3.4:** Mecanismo de fitovolatilização, em corpos de água contaminados (à esquerda) e em solos contaminados. Adaptado de EPA (2000) e Andrade et al (2007). Nota: C' representa o contaminante volátil.

### 3.2.4. Mecanismos que conduzem à degradação de metais pesados na biomassa vegetal

A degradação de contaminantes refere-se à destruição ou alteração de contaminantes orgânicos e envolve dois mecanismos: a **rizodegradação** e a **fitodegradação** (Figura 3.5). O primeiro refere-se ao aumento da biodegradação na rizosfera, causada pela acção de microrganismos. A fitodegradação ou fitotransformação envolve a bioconversão do poluente no interior das plantas ou à sua superfície, que através de catabolismo ou anabolismo é convertido a formas menos tóxicas (Pivetz, 2001).

No mecanismo de fitodegradação, as plantas degradam poluentes orgânicos através de processos metabólicos, e usam as respectivas associações rizosféricas. As enzimas são libertadas na rizosfera desempenhando papéis activos na transformação de contaminantes como munições, solventes clorados, herbicidas e insecticidas, mas também nutrientes inorgânicos (Schnoor et al., 1995). A absorção de contaminantes orgânicos pela planta é função da respectiva hidrofobicidade, solubilidade e polaridade. Convém referir que os mecanismos de fitorremediação apresentados, em muitas espécies vegetais, ocorrem em simultâneo, e por essa razão, todos os factores descritos deverão ser tomados em conta, aquando da implementação de um projecto de fitorremediação.



**Figura 3.5:** Mecanismos de fitodegradação e rizodegradação. Adaptado de EPA (2000); Andrade *et al* (2007); Fernando (2005).

Alguns autores referem-se também ao mecanismo de **fitoestimulação**, que remete para o estímulo da presença microbiana na rizosfera de determinadas plantas, e para a consequente biodegradação microbiana, mediante exsudatos radiculares e/ou fornecimento de tecidos vegetais (Andrade *et al.*, 2007). Neste trabalho, consideramos a fitoestimulação como parte integrante do processo de fitodegradação. Rajkumar e Freitas (2008) efectuaram a inoculação de *Pseudomonas* sp. Psm6 e *Pseudomonas jessenii* PjM15 na espécie *Ricinus communis* provocando-lhe um aumento na sua biomassa aérea e radicular, quer em solos não contaminados, quer em solos contaminados com metais. Cada mecanismo apresenta vantagens e desvantagens, devido a esses factores, e outros de natureza intrínseca ao mecanismo (**Quadro 3.3**). Estudos como os de Marchiol *et al.* (2007), em que foi estudado o potencial de fitoextracção do sorgo (*Sorghum bicolor*) e do girassol (*Helianthus annuus* L.) em solos contendo vários metais, e os de Zhuang *et al.* (2009) salientam o facto das práticas agronómicas conduzidas no solo poderem aumentar a biodisponibilidade dos metais, e consequentemente o sucesso da fitoextracção. Outros estudos, como os de Mleczek *et al.* (2009) e Adler *et al.* (2008) referem-se à adição de EDTA, como agente complexante de iões dos metais pesados, contribuindo de modo significativo para um aumento na biodisponibilidade de Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn no salgueiro, tendo aumentando a acumulação dos sete metais. Independentemente da idade das plântulas, à concentração de 1,5 mmol/0,5 dm<sup>3</sup> de metais, assistiu-se a uma degradação gradual das funções vitais das plantas (algumas murcharam e outras apresentaram um retardamento completo do crescimento). Os autores não se referem à qualidade da biomassa

para fins energéticos, mas outros estudos sugerem que a qualidade da biomassa de *Salix viminalis* é mais reduzida para este fim quando contenha metais pesados na sua composição.

**Quadro 3.3:** Vantagens e desvantagens dos mecanismos de fitorremediação.

Mecanismo de fitorremediação	Vantagens	Limitações	Referência
Fitoextração	O metal extraído da biomassa da planta pode ser reaproveitado. É o caso do Se, que por essa via poderá ser usado na alimentação animal.	a) Algumas hiperacumuladoras de metais apresentam crescimento lento, baixas produtividades e sistemas radiculares rasos; b) a biomassa deverá ser colhida, e a sua deposição/tratamento deverá ser adequado; c) os metais podem provocar efeitos tóxicos nas plantas e eventualmente, em animais que as ingeram.	Bañuelos <i>et al.</i> (2000); Kumar <i>et al.</i> (1995)
Rizofiltração	a) Podem ser usadas plantas adaptadas a ambientes terrestres e aquáticos; b) tem aplicação <i>in situ</i> (e em uma gama alargada de lugares) e <i>ex situ</i> ;	a) Para se obter a absorção ideal pode ser necessário o ajustamento contínuo do pH da solução que contém os contaminantes (metais); (b) a especiação química, assim como a interacção existente entre todos os agentes contaminantes em solução, deverão ser previamente compreendidas e contabilizadas para o efeito; c) nos casos em que se desenvolvem sistemas para o tratamento, estes devem ser bem projectados, nomeadamente ao nível do controlo de afluentes, respectivo fluxo e concentração; d) as plantas destinadas ao efeito, sobretudo as terrestres, poderão ser provenientes do crescimento em estufa ou viveiro nos primeiros estágios de crescimento, e só depois transplantadas para o sistema de rizofiltração; e) é obrigatória a colheita periódica e o consequente destino da biomassa deve ser adequado; f) muitos resultados obtidos em laboratório e em estufas poderão não ser viáveis em aplicações reais no terreno.	[Dushenkov <i>et al.</i> (1995)]
Fitoestabilização	a) A remoção do solo não é necessária; b) comparativamente a outras tecnologias de remediação do solo é mais económica e menos nociva para esse meio; c) a introdução de vegetação estimula a restauração do ecossistema associado; d) não é necessário nenhum tratamento de biomassa.	a) Os contaminantes permanecem no local; b) a vegetação pode exigir fertilização extensiva e operações ao nível das propriedades do solo; c) a técnica pode promover o aumento da solubilidade de metais, mediante a libertação de exsudados provenientes das raízes, e por essa razão deverá conseguir-se evitar a respectiva lixiviação; d) a técnica pode constituir somente uma medida provisória; e) a estabilização de contaminantes pode dever-se somente às operações realizadas no solo, e não às raízes das plantas.	Jabeen <i>et al.</i> (2009)
Fitodegradação	Pode ser utilizada no tratamento de solos, sedimentos, lamas, águas subterrâneas e superficiais, e em solos estéreis, onde não existam microrganismos (por inibição do contaminante).	(a) Durante o processo podem originar-se compostos tóxicos intermédios; (b) a identidade e presença de determinados metabolitos no interior da planta podem ser de difícil determinação.	EPA (2000)
Rizodegradação	(a) Baixos custos de implementação; (b) degradação do contaminante na fonte, em alguns casos ocorrendo mineralização dessa substância.	(a) Para que se desenvolva um sistema radicular significativo é necessário muito tempo; (b) a profundidade da raiz pode ser limitada pela estrutura física e humidade do solo; (c) a rizosfera pode induzir um aumento inicial da taxa de degradação quando comparada com a componente do solo onde não chegam as raízes; (d) muitos dos mecanismos da fitorremediação poderão actuar em simultâneo, o que pode complicar a análise da acção da rizodegradação; (e) as plantas necessitam de fertilização adicional, devido à competição por nutrientes com microrganismos; (f) os exsudados liberados pelas raízes das plantas poderão favorecer microrganismos que não estejam envolvidos na degradação das substâncias; (g) a matéria orgânica das plantas pode ser utilizada como fonte de carbono, em vez do contaminante, o que poderá resultar numa diminuição da quantidade de biodegradação.	EPA (2000)
Fitovolatilização	a) Os contaminantes são convertidos a formas menos tóxicas e a perturbação da instalação é mínima; (b) alguns contaminantes e metabolitos resultantes (não metálicos) poderão ser submetidos a processos de degradação mais rápidos e eficazes (fitodegradação).	a) O contaminante ou metabolito volátil pode ser perigoso, e não é possível controlar a sua migração para outras áreas; quando metálico, pode regressar ao solo, por deposição atmosférica; (b) o contaminante ou metabolito pode acumular-se nos vegetais, aí permanecendo após processamento da biomassa para outros fins; existe risco de bioacumulação.	EPA (2000)

Lewandowski et al., (2006) estudaram o valor económico da função fitorremediadora, tomando como exemplo a remediação de Cd com salgueiros (*Salix* spp.). Concluíram que o uso de salgueiros na fitorremediação de solos apresenta um valor económico positivo quer para os produtores quer para as autoridades. Esse valor é dependente: a) da metodologia usada no cálculo desse valor; b) dos produtos obtidos a partir da biomassa produzida por fitorremediação; c) das condições edafo-climáticas; d) da situação financeira local, das dinâmicas dos mercados locais e da possibilidade de produzir culturas e produtos correspondentes de elevado valor económico; e) do período de depreciação, isto é, o valor que poderá ser obtido até a remediação do solo estar concluída; f) do tempo necessário para remediar o solo; g) do investimento inicial previsto, conduzido pelos produtores nas áreas contaminadas; h) dos custos da fitorremediação, que dependem dos custos de produção da cultura, de custos adicionais associados ao tratamento dos metais pesados contidos na biomassa e do rendimento obtido da venda da biomassa.

Os autores referem ainda que esse valor pode depender ainda de factores como a percepção individual e preferências das pessoas (e da respectiva formação). Esse valor reflecte sobretudo o valor realístico da função fitorremediadora para os produtores, e não dos custos deste método de substituição. Pode ainda servir no apoio à decisão sobre a escolha do tipo de biomassa óptimo para um local/ sistema de fitorremediação. Para os autores, estes resultados podem ser só relevantes a um nível macroeconómico.

Da análise dos estudos incluídos neste ponto, pode observar-se que os principais mecanismos da fitorremediação de metais pesados utilizados pelas culturas energéticas são a fitoextracção, a fitoestabilização e a fitovolatilização e os seus desempenhos na fitorremediação estão dependentes de diversos factores, de naturezas diversas. Existe um enorme potencial de exploração de solos contaminados com metais pesados utilizando este tipo de culturas. Interessa agora, averiguar o potencial de fitorremediação da espécie *Arundo donax* L. analisado de seguida, no próximo capítulo.

### **3.3. Tecnologias utilizadas na valorização da biomassa contaminada com metais pesados**

Vimos que a tecnologia de fitorremediação apresentava diversas vantagens, mas também algumas desvantagens. Um dos factores limitativos da tecnologia remete para o manuseio e descarte da biomassa enriquecida com metais. O que fazer à biomassa enriquecida com metais? De momento, esta questão representa o *bottle neck* da valorização da biomassa obtida por esta tecnologia. O volume desta biomassa pode ser reduzido por meios térmicos, microbianos, físicos ou químicos. Uma vez que a biomassa apresenta, normalmente, elevados teores de humidade, apresentando baixa densidade, existem algumas dificuldades no seu transporte,



armazenamento e utilização quando não se procede a nenhum tipo de pré-tratamento. Assim, alguns métodos de conversão térmica como a pirólise, gaseificação e carbonização com o intuito de obter produtos de combustão ou da conversão biológica para produção de metanol, são preferíveis à combustão directa (Lievens et al., 2008,a), especialmente quando a biomassa contém uma elevada quantidade de metais pesados, que podem volatilizar a elevadas temperaturas usadas na combustão. Durante a combustão da biomassa, atingem-se temperaturas até 1273 K, sendo volatilizados alguns metais como o Cd e do Zn, ficando concentrados na fracção volátil. Assim, outras técnicas ou tratamentos térmicos, como a pirólise (a baixa temperatura), podem ser explorados, com sucesso, para reduzir o volume e massa da biomassa contaminada com metais pesados, para mais facilmente se poder proceder à sua valorização na forma de combustíveis e químicos (Lievens et al., 2008,a). Portanto, mediante a combinação destas técnicas é possível, a remoção de metais dos solos e sua concentração nas cinzas e *char* da biomassa utilizada na sua remoção, o que permite a valorização dos metais e obtenção de biocombustíveis e produtos químicos. Os efeitos da temperatura de pirólise na composição e evolução das fracções líquidas e gasosas do processo também têm vindo a ser estudadas, com o intuito de valorizar os metais pesados contidos na biomassa (Lievens et al., 2008,b). Outros métodos, incluem a valorização das cinzas, contendo metais pesados, e provenientes de culturas energéticas utilizadas na fitorremediação, em aplicações agrícolas e florestais, desde que os teores de metais contidos na biomassa estejam abaixo dos limites legais contemplados na legislação (Bonano et al., 2013). Contudo, este método não promove de facto uma solução real para a recuperação do metal e valorização da biomassa. De facto, os metais regressam ao solo, e é aproveitado o regime legal local para o destino dos metais.

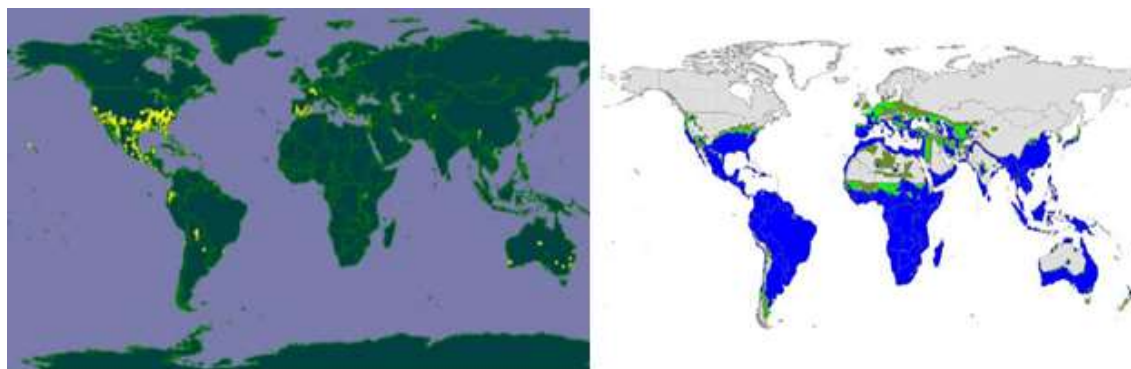
## 4. Caracterização da planta *Arundo donax* L.

A cana (*Arundo donax* L.) é uma planta herbácea perene de crescimento rápido que produz elevadas produtividades de biomassa na matéria seca (El Bassam, 2010). Pertence à família *Poaceae*, da tribo *Arundinae*, sendo a mais comum dentre as espécies do seu género, que inclui também o *Arundo plinii*, o *Arundo collina*, o *Arundo mediterranea* e o *Arundo formosana* (Mariani *et al.*, 2010). A classificação taxonómica da espécie é apresentada pelo *United States Department of Agriculture – USDA* (2012):

Reino	<i>Plantae</i>	(Plantas)
Sub-reino	<i>Tracheobionta</i>	(Plantas vasculares)
Super-divisão	<i>Spermatophyta</i>	(Plantas com sementes)
Divisão	<i>Magnoliophyta</i>	(Plantas com flores)
Classe	<i>Liliopsida</i>	(Monocotiledóneas)
Subclasse	<i>Commelinidae</i>	
Ordem	<i>Cyperales</i>	
Família	<i>Poaceae</i>	(Gramíneas)
Género	<i>Arundo</i> L.	
Espécie	<i>Arundo donax</i> L.	(Cana)

### 4.1. Origem e distribuição geográfica actual

Algumas fontes sugerem uma origem asiática (Angelini *et al.*, 2005; Cosentino *et al.*, 2006; Angelini *et al.*, 2009; GISIN, 2012), sendo que a espécie cresce também de forma espontânea em toda a bacia mediterrânica (El Bassam, 1998) (**Figura 4.1**).



**Figura 4.1:** Distribuição global actual da espécie *Arundo donax* L. (à esquerda) (Cosentino, 2014) e mapa de adequabilidade climática para a espécie, de acordo com o modelo ecoclimático CLIMEX, onde: em cinzento estão representadas as áreas desfavoráveis; em verde-claro, as áreas propícias ao desenvolvimento da espécie; em verde-escuro, as favoráveis; e em azul, as muito favoráveis (Berney e DiTomaso, 2011).

Apesar de ser uma espécie de climas temperados quentes e subtropicais, certos genótipos estão adaptados a climas mais frios, podendo ser cultivados no Reino Unido e Alemanha. É cultivado

em toda a Ásia, Sul da Europa, Norte de África e Médio Oriente há milhares de anos (El Bassam, 2010). A espécie tornou-se globalmente dispersa, sendo possível encontrá-la em todos os continentes (Pilu *et al.*, 2012). A sua elevada disseminação explica-se em parte pelo facto de a sua biomassa (sobretudo o caule) apresentar qualidades excelentes em termos de elasticidade, resiliência e resistência à humidade (El Bassam, 2010), tendo sido também cultivada em muitas regiões, ou introduzida como planta ornamental (Cosentino *et al.*, 2006).

## 4.2. Biologia e morfologia

O *Arundo donax* L. (**Figura 4.2**) é uma planta robusta e não alimentar (El Bassam, 1998), com ciclo fotossintético em C3, apresentando taxas fotossintéticas comparáveis às C4 (Papazoglou *et al.*, 2005), podendo atingir, entre Junho-Julho, no Mediterrâneo, taxas médias de crescimento diárias da ordem dos 7 cm (El Bassam, 2010). Nas regiões quentes-temperadas, o seu crescimento vegetativo ocorre, normalmente, entre Fevereiro-Março, quando novos rebentos surgem do solo. O desenvolvimento, ocorre de Fevereiro a Outubro, sendo que na primavera ocorre a elongação dos caules e no verão o seu desenvolvimento. O florescimento ocorre de Agosto a Novembro, surgindo uma inflorescência na folha apical, na extremidade do caule. A cessação do crescimento ocorre entre Novembro e Fevereiro, altura em que os caules começam a perder humidade, as folhas começam a entrar em senescência e a panícula se desfaz (Cosentino, 2014).

Possui um sistema radicular do tipo rizoma, muito extenso e profundo (Lewandowski *et al.*, 2003). Os rizomas são longos (de 5 a 50 cm de comprimento), densos, muito ramificados, robustos e lenhosos (Cosentino, 2014), encontrando-se normalmente próximos à superfície do solo (5 a 15 cm) (Pilu *et al.*, 2012), com diâmetros de 1-10 cm (El Bassam, 2010). As raízes são fibrosas, provenientes do rizoma (**Figura 4.3**), e podem atingir os 100 cm de comprimento (Lewandowski *et al.*, 2003). Frandsen (1997) registou raízes com comprimentos de 4,9 m em areia. Os caules são ocos, robustos e erectos, crescendo em grupos densos oriundos do mesmo rizoma. Atingem os 3,5 cm de diâmetro e os 10 m de altura (El Bassam, 2010), apresentando espessuras variáveis entre os 2-7 mm, com distâncias entre nós que podem chegar aos 30 cm de comprimento (Pilu *et al.*, 2012).



**Figura 4.2:** Aspecto geral das folhas (à esquerda) (ivasoras.uc.pt) e componente aérea (dossel) de *Arundo donax* L. (Odero et al., 2011).

As folhas são alternas, com 5-8 cm de largura, e 30-70 cm de comprimento (Lewandowski *et al.*, 2003). A inflorescência é uma panícula apical muito ramificada, que pode atingir 60 cm de comprimento (El Bassam, 2010; Cosentino, 2014). A fecundação é eólica, porém as sementes (cariopses) são estéreis, sendo que a espécie se reproduz por propagação vegetativa (agâmica) do rizoma factor que dificulta o desenvolvimento de programas de melhoramento genético da espécie (Cosentino et al., 2006). Apresenta fundamentalmente duas variedades: o *Arundo donax* var. *variegata* e o *Arundo donax* var. *macrophylla*, outras variedades são também referidas na literatura, mas não diferem de forma significativa das duas referidas (Lewandowski *et al.*, 2003).



**Figura 4.3:** Componentes da planta. Da esquerda para a direita, estão representadas imagens dos rizomas (Odero et al., 2011), caules (Odero et al., 2011), inflorescência ([www.discoverlife.org](http://www.discoverlife.org)), e as sementes (Cosentino, 2014) de *Arundo donax* L.

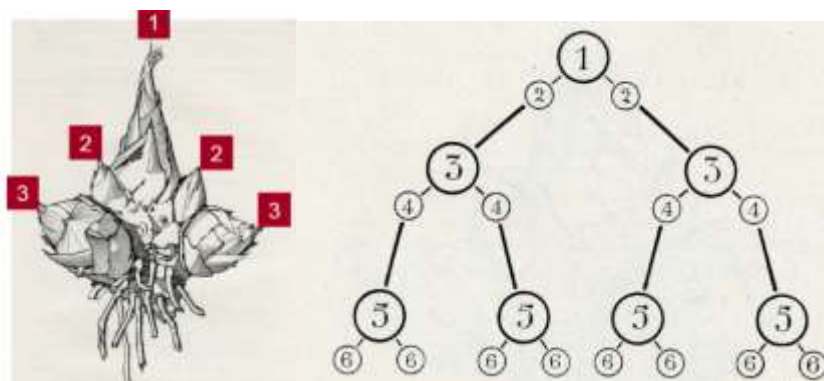
### 4.3. Factores edafo-climáticos e exigências ecológicas

O *Arundo donax* L. tolera uma elevada gama de condições ecológicas (Perdue, 1958; Shatalov e Pereira, 2002), podendo adaptar-se com facilidade a praticamente todos os tipos de solos, o que inclui solos argilosos e arenosos, cascalho, salinas (halófita), solos inférteis e contaminados com

metais pesados (Papazoglou *et al.*, 2005), margens de terrenos agrícolas e de estradas; embora prefira solos bem drenados e de elevada humidade, nos quais exibe maiores produtividades (Lewandowski *et al.*, 2003; El Bassam, 2010). Por conseguir sobreviver, por longos períodos de tempo, quer em ambientes húmidos, quer em ambientes secos (acompanhados por baixas humidades atmosféricas), pode classificar-se como uma espécie mesófito, embora nos ambientes referidos, se comporte quase como higrófito e xerófito, respectivamente (Lewandowski *et al.*, 2003). Ocorre naturalmente em áreas com 300-4000 mm de precipitação anual, entre 9-28°C de temperatura anual e até altitudes de 2300 m (Cosentino, 2014). Consegue resistir a ambientes frios, embora geadas na primavera possam causar mortalidade a alguns rebentos (El Bassam, 2010). Não tolera baixas temperaturas, embora seja apta a tolerar temperaturas muito baixas quando dormente (Cosentino, 2014).

#### 4.4. Cultivo e propagação

A propagação é efectuada via corte dos rizomas ou dos caules. A propagação via rizoma deverá ser efectuada no início da primavera, antes dos novos brotos começarem a surgir da planta original. A propagação, via corte dos caules, deverá ser implementada numa fase mais tardia do ciclo de crescimento, quando o solo esteja mais quente, e seja promovida a mobilização das gemas dos nós do caule, para que se desenvolvam novos brotos (**Figura 4.4**).



**Figura 4.4:** Rizoma e modelo de propagação do rizoma de *Arundo donax* L. O desenvolvimento dos brotos principais (1) ocorre na primavera; os secundários (2) no verão; e, os gomos de extensão (3); ocorre em rizomas já desenvolvidos, também no verão (Cosentino, 2014).

Com a técnica de corte dos caules, atingem-se produtividades da biomassa mais baixas que as obtidas por transplantação do rizoma. Uma técnica de propagação mais barata, mas menos eficaz, consiste no plantio de todo o caule. Os caules são colocados no solo, e enterrados a uma profundidade de 4-8 cm (El Bassam, 2010). Metodologias de propagação *in vitro* foram também relatadas (Pilu *et al.*, 2012), e algumas pesquisas tentam induzir o desenvolvimento de raízes ao

nível dos caules, para aumentar a eficiência da propagação mediante essa técnica (Cosentino, 2014).

A cultura não apresenta requisitos especiais em termos de preparação do solo. Um simples revolvimento do solo ou a utilização de uma grade de discos é considerada suficiente. De forma a atingirem-se produtividades mais elevadas, Angelini *et al.* (2009) referem-se a densidades de sementeira na ordem das 20.000 e as 40.000 plantas.ha<sup>-1</sup>. A espécie responde de forma significativa à irrigação (El Bassam, 2010). Sob condições de sequeiro poderão bastar 44-108 mm de irrigação (na altura da adubação) (Lewandowski, *et al.*, 2003). Anualmente a planta pode necessitar entre 375 mm e 560 mm (Nackley *et al.*, 2014) fornecidos por irrigação para compensar o volume de água anual que chega por precipitação. Também Mantineo *et al.* (2009) e Borin *et al.* (2013) aplicam irrigações na ordem dos 450 mm à planta, para compensar anos em que a precipitação ronda os 400-500 mm. Em termos de fertilização, é necessária a aplicação de fósforo (200 kg.ha<sup>-1</sup>) durante a lavoura. Os solos da região mediterrânica são ricos em potássio, não sendo necessária fertilização com este nutriente. Em solos pobres em azoto, são recomendadas aplicações anuais de 100 kg.ha<sup>-1</sup> N ano<sup>-1</sup>, nos períodos iniciais de crescimento da cultura, antes de surgirem os novos brotos no início da primavera (El Bassam, 2010). A adubação de 40 kg N ha<sup>-1</sup> é a mais indicada sob o ponto de vista económico e ambiental (Christou *et al.*, 2001).

#### 4.5. Resistência a pragas

A espécie é altamente resistente a pragas (**Figura 4.5**), tal como o são inúmeras hiperacumuladoras (Baker *et al.*, 2000), podendo, contudo, ser atacada pela *Sesamia* spp. e morrer nas fases iniciais do crescimento, e ainda pela *Tetramesa romana* (a vespa-do-arundo) e a *Rhizaspidiotus donacis*, espécies utilizadas no controle biológico da cana (Goolsby e Moran, 2009), em situações em que esta apresenta carácter invasivo (USDA, 2012; GISIN, 2012; CISR, 2014). Não necessita da aplicação de herbicidas, sobretudo se a técnica de plantio por estabelecimento de cortes de rizomas for aplicada (Lewandowski *et al.*, 2003; El Bassam, 2010). Actualmente ainda não se procede ao cultivo de *Arundo donax* L. em grande escala, mas existem campos experimentais (Cosentino *et al.*, 2006; Ceotto e DiCandilo, 2010).



**Figura 4.5:** Pragas do *Arundo donax* L. À esquerda *Tetramesa romana* (Center for Invasive Species Research, 2014); ao centro e à direita, *Sesamia* spp. (<http://keys.lucidcentral.org/>).

#### 4.6. Produtividades

É considerada uma das culturas energéticas mais rentáveis, uma vez que é perene e os seus *inputs* anuais, após o ano de estabelecimento, são muito baixos. As suas populações naturais, não melhoradas, podem originar produções de biomassa na ordem das 40 Mg.ha<sup>-1</sup> em matéria seca (El Bassam, 2010). As produtividades de matéria seca do *Arundo donax* L. rondam os 30 – 40 Mg.ha<sup>-1</sup>, mesmo quando se verifica um baixo *input* técnico (Shatalov e Pereira, 2002; Venturi e Monti, 2005; Picco, 2010), sendo que uma das produtividades máximas encontradas na literatura é da ordem das 46 Mg.ha<sup>-1</sup> (matéria seca) em Espanha (Hidalgo e Fernández, 2001). As produtividades médias (3 ciclos de crescimento, com colheitas de Outono) da biomassa fresca e seca podem chegar respectivamente às 59,8 e 32,6 Mg.ha<sup>-1</sup>, com elevadas taxas de irrigação (700 mm/ano) e 55,4 e 29,6 Mg.ha<sup>-1</sup> para taxas de irrigação baixas (300 mm/ano) (El Bassam, 2010).

#### 4.7. Processamento

Conforme o destino que se pretenda dar à sua biomassa, deverá ser feita um tipo de colheita (**Figura 4.6**) distinta. Para material usado para abrigos de protecção, por exemplo, a colheita deverá ser efectuada de dois em dois anos, para aumentar a durabilidade da protecção, mas para fins de produção de biomassa para energia, a colheita deverá ser feita anualmente, na primavera.





**Figura 4.6:** Colheita (Vídeo, [www.youtube.com](http://www.youtube.com)) e processamento (<http://www.eenews.net>) de *Arundo donax* L.

Nas regiões do sul da Europa, como Portugal, a colheita poderia ser efectuada quer no Outono, quer no final do Inverno, contudo poderiam observar-se perdas na ordem dos 30% na matéria seca, especialmente se os Invernos forem rigorosos, e o vento for um factor muito proeminente. No entanto, e especialmente sob climas semiáridos do mediterrâneo, as condições meteorológicas permitem a secagem natural no campo, após o corte. Contudo, a antecipação do corte pode antecipar o ciclo da planta (o ciclo seguinte), especialmente em solos férteis e regiões quentes, e os brotos surgirem no início da primavera. Como nesta fase, ocorrem ainda algumas geadas, muitos desses brotos poderão ser destruídos (apesar de rapidamente substituídos por outros). Outra vantagem da biomassa da cana é a sua facilidade de armazenamento. Pode ser armazenada sem qualquer protecção de um abrigo, envolvendo perdas mínimas, normalmente ao nível das folhas (10-15% do total de biomassa). Os caules podem ser armazenados quase sem perdas (El Bassam, 2010).

#### 4.8. Características da biomassa

Os conteúdos de celulose e hemicelulose da biomassa são de cerca de 45% da biomassa seca, enquanto o seu conteúdo de lenhina é de cerca de 25% (El Bassam, 2010). O seu poder calorífico ronda os 17,3-18,8 MJ.kg<sup>-1</sup> (matéria seca nos caules) e os 14,8-18,2 MJ.kg<sup>-1</sup> (matéria seca nas folhas), o seu conteúdo em cinzas varia entre os 4,8-7,4% (matéria seca), os teores de carbono entre 17,7-19,4% (matéria seca), os teores de humidade de 36-49% (colheita de Outono) (Lewandowski *et al.*, 2003; El Bassam, 2010). Venturi e Monti (2005) referem-se a teores de 0,74% N e a conteúdos de 1,8 mg.kg<sup>-1</sup> S e 2,63 mg.kg<sup>-1</sup> Cl na biomassa de *Arundo donax* L. A antecipação do período de colheita pode constituir um método para reduzir o conteúdo de cinzas da biomassa em cerca de 20%, embora haja uma redução dos teores de sílica e potássio da colheita de outono para a colheita de inverno (Nasso *et al.*, 2010).



A sua biomassa tem grande aplicação na produção de energia (**Quadro 4.1**). Pode ser usada na produção de biocombustíveis sólidos para combustão directa e co-combustão (Hoffmann *et al.*, 2010), na gasificação e pirólise (Ghetti *et al.*, 1996), por digestão anaeróbia para produzir biogás, ou ainda submetida a fermentação alcoólica para a produção de bioetanol (Pilu *et al.*, 2012).

**Quadro 4.1:** Análise química de material desbastado e peletizado de *A. donax* em comparação com outras espécies (matéria seca) (Pilu *et al.*, 2012).

Parâmetro (matéria seca)	<i>Arundo donax</i> L.	<i>Panico virgatum</i>	<i>Miscanthus</i>	Choupo
Cinzas (%)	6.1	8.3	2.3	0.50
N (%)	0.71	0.67	0.16	0.08
Si (mg.kg <sup>-1</sup> )	13920	14991	7305	<400
Ca (mg.kg <sup>-1</sup> )	3253	6555	1776	938
K (mg.kg <sup>-1</sup> )	6497	12756	1446	484
Na (mg.kg <sup>-1</sup> )	331	924	58	30
Mg (mg.kg <sup>-1</sup> )	1627	2223	644	152
Al (mg.kg <sup>-1</sup> )	919	763	82	n.a.
S (mg.kg <sup>-1</sup> )	2160	735	390	73
Cl (mg.kg <sup>-1</sup> )	2245	1511	880	53
Poder calorífico (MJ.kg)	19.8	17.8	19.6	20.3

Embora a transformação térmica da sua biomassa mostre um excelente balanço energético, a qualidade da biomassa é bastante pobre quando o destino é a combustão. A análise química de biomassa desbastada e de *pellets* de *Arundo donax* L. tem mostrado uma grande quantidade de cinzas totais, cloro, enxofre, sílica e metais, que podem contribuir para a redução do ciclo de vida de uma central de combustão (Nasso *et al.*, 2010; Picco, 2010).

Para além do referido, as emissões provenientes da combustão apresentam elevadas concentrações quer de poeiras, quer de micropartículas, produzindo compostos que poderão ser nocivos para a saúde humana e para o ambiente, como óxidos de azoto, ácido clorídrico, monóxido de carbono e dióxido de enxofre (**Quadro 4.2**) (Nasso *et al.*, 2010).

**Quadro 4.2:** Análise química das emissões da combustão da biomassa de *A. donax* em comparação com outras espécies (mg.m<sup>3</sup>) (Pilu *et al.*, 2012).

Parâmetro (mg.m <sup>3</sup> )	<i>Arundo donax</i> L.	<i>Panico virgatum</i>	<i>Miscanthus</i>	Choupo
Partículas	102	58	27	21
<1µm	67	50	16	16
NO <sub>x</sub>	363	368	187	106
HCl	67	18	59	3
SO <sub>2</sub>	278	91	53	3
CO	443	145	55	1

## 4.9. Utilização da biomassa

Outras características do *Arundo donax* L. deverão, contudo, ser consideradas. A robustez dos seus rizomas permite usar a espécie na sustentação de taludes e no controlo da erosão (Cosentino, 2014). Considerando o volume e cobertura de solo que pode alcançar, e ainda a elevada eficiência de utilização de nutrientes e recursos hídricos da espécie (Angelini *et al.*, 2005; Angelini *et al.*, 2009) pode também ser equacionada a sua utilização no combate à desertificação. Sendo plantada em solos marginais e degradados pode constituir uma forma de valorização imediata desses solos, usados na produção de culturas para fibra, por exemplo. O material do caule é flexível e forte, podendo ser utilizado no fabrico de canas-de-pesca, instrumentos musicais de sopro, bengalas, materiais para construção, pasta de papel, como suporte para plantas trepadeiras e em vinhas (**Figura 4.7**) (Perdue, 1958; Pilu *et al.*, 2012). Mais recentemente tem sido indicado como fonte de celulose para papel, e a sua biomassa indicada para a produção de energia (El Bassam, 1998; Angelini *et al.*, 2005; Cosentino *et al.*, 2006; Mantineo *et al.* 2009; Angelini *et al.*, 2009). A biomassa pode ser utilizada com fins medicinais (raízes e folhas) (Cosentino, 2014).



**Figura 4.7:** Utilização do caule de *A. donax* L.: A – Cana-de-pesca; B – Estacas para plantas; C – Palhetas para instrumentos de sopro; D – Colmo em telhados (Pilu *et al.*, 2012).

## 4.10. *Arundo donax* L., uma planta com potencial invasor: estratégia de controlo

Este ponto foca uma das questões mais importantes do presente trabalho, e vai de encontro à seguinte questão: pode uma cultura energética como o *A. donax* L., com elevado potencial invasor em muitas áreas do globo, ser utilizada na fitorremediação de solos contaminados com metais pesados, sem que tal provoque a sua dispersão em áreas contíguas à área contaminada onde ela será introduzida? Ou seja, não basta o facto de a planta estar sem controlo em muitas áreas naturais e possuir um elevado sentido de oportunidade e potencial de invasão? Faz sentido, mediante uma intensão, nobre, que é a promoção da remediação de solos em alguns lugares (nos solos contaminados), fomentar a sua disseminação, e eventualmente dar-lhe a

oportunidade de invasão em novos solos, e alguns férteis, nas imediações dos contaminados? Os atributos requeridos para as culturas energéticas ideais correspondem aos das típicas ervas daninhas e flora invasora: crescimento rápido, baixos *inputs* de fertilizantes, elevada eficiência de uso de água e nutrientes, ausência de pragas e doenças (Low et al., 2011). Por exemplo, mais de dois terços, das plantas propostas para a produção de biocombustíveis no Havai, ou aí cultivadas e os respectivos biocombustíveis mediante uso dessa biomassa produzidos noutros lugares, apresentavam elevado risco de se tornarem invasoras na ilha (Low et al., 2011). Muitos aspectos característicos de muitas espécies invasoras, incluindo o *Arundo donax* L, que pertence ao top 100 da lista do GISIN (2014) são as seguintes: a) as espécies são plantadas/ cultivadas num número massivo, em grandes extensões de terreno, assegurando a formação dos seus propágulos; b) a configuração das plantações cria óptimas condições para o início da invasão: por exemplo, talhões de árvores, e algumas técnicas agrícolas que abram o espaço nos solos, propiciam a sua disseminação, por funcionarem como corredores de dispersão, por exemplo para espécies que se propaguem por via eólica; c) muitas vezes, as plantações estão situadas entre locais onde ocorre vegetação natural e vegetação seminatural, muitas vezes geridas para outros usos, criando conflitos de interesse, abrindo a oportunidade à invasão; d) o estabelecimento destas culturas é muitas vezes acompanhado por perturbações como a introdução de fungos mutualistas micorrízicos, para reduzir a competição com a vegetação nativa, favorecendo o desenvolvimento e invasão destas plantas, não só nas áreas de cultivo, como nas imediações (Richardson e Blanchard, 2011), mas também a simplificação do ecossistema pré-existente. A invasão de *A. donax* L. (**Figura 4.8**) tem sido observada em ecossistemas ripícolas e em ecossistemas simplificados, casos de margens de estradas, onde tendencialmente forma dosséis, em monocultura, ao longo de quilómetros (Pilu et al., 2012).



**Figura 4.8:** Foto aérea oblíqua mostrando os padrões de propagação da invasão de *A. donax* L. (à esquerda) e preparação do tratamento com aplicação de herbicidas na Califórnia (à direita) (California Invasive Plant Council, 2011).

Na Califórnia e em Rio Grande Basin, por exemplo, onde a sua invasão assume um carácter dramático, e as instituições locais têm investido muitos recursos no seu controlo, a planta tem

causado efeitos negativos ao nível: do suprimento hídrico para agricultura, biodiversidade, acesso aos rios, risco de fogo e de conservação dos ecossistemas locais (California Invasive Plant Council, 2011; Pilu et al., 2012).

O elevado vigor, ciclo vegetativo antecipado, e a grande produção de propágulos são as vantagens competitivas mais importantes da espécie, em relação às plantas nativas, especialmente após a ocorrência de eventos extremos, como cheias e fogos. Após ocorrência de eventos extremos, a vegetação nativa não consegue competir com a elevada taxa de crescimento da espécie, removendo rapidamente para si os nutrientes, água e luz. O sucesso da sua difusão deve-se à rapidez do seu desenvolvimento vegetativo. Os seus rebentos brotam muito antes das sementes das plantas nativas com reprodução sexuada, e ocorrências como o transporte de fragmentos dos seus rizomas: cheias ou actividades de máquinas agrícolas, ou intencionalmente, para usos domésticos por seres humanos, fomentam a sua disseminação. O controlo químico tem sido referido como o método mais eficiente na sua erradicação, consistindo, basicamente, na aplicação do herbicida glifosato entre Agosto e Novembro (Pilu et al., 2012; Cosentino, 2014). Muitas vezes a sua aplicação, ocorre por helicóptero e outros meios aéreos, provocando também uma ampla difusão de compostos químicos nos solos. Também a remoção mecânica dos rizomas, dos solos, com máquinas escavadoras, tem sido referida como uma técnica eficiente de remoção (Cosentino, 2014). Esta é uma técnica que, contudo, remove simultaneamente o solo, dada a profundidade e extensão do sistema radicular de *Arundo*, deixando ainda pequenos fragmentos de rizoma que poderão vingar novamente.

Assim, face à intensão de colocar a espécie em terrenos contaminados, como se pode promover a gestão da espécie? Primeiro vimos que a espécie é invasora em estado natural, isto é, numa situação em que não ocorre controlo ou preocupação humana. Um projecto de fitorremediação, numa área contaminada, pretende acima de tudo, promover a restauração do ecossistema prévio, ou pelo menos a melhoria da área do solo contaminado. Sendo assim, esse projecto deverá contemplar um plano de contenção e controlo da espécie, mesmo nos casos de eventos extremos, e nunca em ecossistemas ripários. Em ecossistemas não-ripários, é possível cultivar *A. donax* L., cultivando-a a um mínimo de 20 m de linhas de drenagem e por adopção de medidas de precaução nas épocas de colheita, transporte e processamento (Virtue et al., 2010).

Deve, ainda, pensar-se que, face às características fisiológicas da espécie, e quando introduzida em terrenos contaminados, desprovidos de qualquer tipo de vegetação, submetidos a erosão e fomentando o processo de desertificação às escalas local, regional e global, se promove activamente a restauração de diversas propriedades do solo, controlo da erosão, incremento de nutrientes e carbono, a sustentação dos locais, e, o aumento, por mínimo que seja, da diversidade biológica e paisagística.

#### **4.11. Fitorremediação de solos contaminados com metais pesados utilizando *Arundo donax* L.**

Este ponto apresenta de forma breve os estudos que já utilizaram o *Arundo donax* L. na fitorremediação de solos e outros meios contaminados com metais pesados. A planta não demonstrou nenhum efeito de toxicidade nos parâmetros biométricos e processos fisiológicos (condutância ao nível dos estomas, concentração de CO<sub>2</sub> ao nível intercelular, resistência dos estomas, conteúdo em clorofila e fluorescência da clorofila), nas produtividades e na eficiência do uso da água, quando exposta, por dois anos, a níveis de contaminação de, 5, 50 e 100 ppm (Ni e Cd), podendo utilizar-se a biomassa assim produzida para fins energéticos (Papazoglou et al., 2005; Papazoglou et al., 2007; Papazoglou, 2007). Mirza et al. (2010 e 2011) observaram alguns sintomas de toxicidade, que incluíram o aparecimento de pontos vermelhos nas raízes, surgimento de folhas jovens com cor vermelha, amarelecimento de folhas e desenvolvimento de margens necróticas nas folhas, após utilização de *Arundo donax* L. na fitoextração e fitovolatilização de As (0, 50, 100, 300, 600 e 1000 µg.dm<sup>-3</sup>), de águas residuais sintéticas. O conteúdo metálico recuperado nas plantas foi quase o mesmo que as concentrações de arsénio fornecidas ao meio contaminado. Medições de mudanças fisiológicas e anatómicas ultra-estruturais mostraram a presença de estomas ao nível dos caules do *Arundo donax* L. a 1000 µg.dm<sup>-3</sup>As, colocando em evidência a volatilização, como um dos mecanismos que a espécie possui para tolerar arsénio. A espécie pode tolerar concentrações de arsénio superiores a 600 µg.dm<sup>-3</sup> As até 1000 µg.dm<sup>-3</sup> As sem sofrer nenhum sintoma de toxicidade. A aparição de alguns sintomas a 1000 µg.dm<sup>-3</sup>As revelam que a planta não consegue tolerar, mas continua a acumular e a volatilizar a concentrações acima de 600 µg.dm<sup>-3</sup>As. Miao et al. (2012) e Guo e Miao (2010) testaram os efeitos de solos contaminados com As (254 mg.kg<sup>-1</sup>), Cd (76,1 mg.kg<sup>-1</sup>) e Pb (1552 mg.kg<sup>-1</sup>), nas características da biomassa de *Arundo donax* L., registando um crescimento rápido da planta, assim como elevadas produtividades na biomassa das respectivas fracções aéreas. A altura das plantas e a biomassa seca reduziram ligeiramente devido à presença dos metais, e a acumulação de metais foi superior ao nível das raízes. Han et al. (2005) referem-se a elevadas produtividades de biomassa, um sistema radicular exuberante e uma elevada adaptabilidade, tolerância e acumulação de Cd e Hg, quando testada a fitoextração de Hg (101 mg.kg<sup>-1</sup>) e Cd (115 mg.kg<sup>-1</sup>). Han e Hu (2005) testaram os efeitos de Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup> (100 mg kg<sup>-1</sup>) e Cr<sup>6+</sup> (50 mg kg<sup>-1</sup>), tendo registado um decréscimo no conteúdo em clorofila (20-56%) e verificado que as pontas das folhas secaram ligeiramente, embora as plantas tenham crescido. A planta não tolerou a concentração de Cr<sup>6+</sup> e o sistema radicular ficou danificado. A concentração de metais pesados no solo diminuiu com o crescimento da planta, provavelmente devido à translocação dos metais para o interior da planta. Mavrogianopoulos et al. (2002) examinaram a eficiência do *Arundo donax* L., como fonte de produção de biomassa e como

sistema de filtração de efluentes de suinicultura, num estudo desenvolvido ao longo de três anos na Grécia. Neste estudo, a planta mostrou uma resposta positiva às aplicações de águas residuais, tanto no que concerne ao crescimento como à produção de biomassa. Não se registaram nenhuns sinais de efeitos nocivos ou tóxicos durante esse crescimento em nenhum tecido da planta, o que revela uma boa tolerância da planta às substâncias presentes nas águas residuais. Somente a absorção de Zn e Cu foi ligeiramente maior do que a absorção das plantas controlo, o que se deveu possivelmente à elevada concentração desses iões na solução nutritiva. Río *et al.* (2002) testaram diversas espécies vegetais (incluindo a espécie *Arundo donax* L.) na fitorremediação de Pb, Cu, Zn, Cd, Tl, Sb e As ( $5000 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), resultantes da contaminação que ocorreu em 1998 no Parque Nacional de Doñana, em Espanha. A planta acumulou  $0-23 \text{ mg.kg}^{-1}$  Pb;  $133-147 \text{ mg.kg}^{-1}$  Zn;  $13-16 \text{ mg.kg}^{-1}$  Cu; e,  $7-11 \text{ mg.kg}^{-1}$  As. Contudo, nas condições descritas, outras espécies apresentaram melhores desempenhos. Este estudo, dá-nos, de forma indirecta, outra informação importante. Em coexistência com outras espécies acumuladoras de metais, numa área contaminada, ela não assume dominância do ecossistema. Boularbah et al. (2006) referem-se à restauração ecológica de solos situados em antigos locais de mineração em Marrocos, contaminados com Cd, Cu, Pb e Zn, e à utilização de diversas espécies vegetais na respectiva fitorremediação. Dentre as espécies utilizadas, o *Arundo donax* L. apresentou factores de bioacumulação de: 0,01 (Cu); 0,004 (Pb); e, 0,04 (Zn). A concentração total de metais na planta foi de  $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$  (Cd),  $7,1 \text{ mg kg}^{-1}$  (Cu),  $2,8 \text{ mg kg}^{-1}$  (Pb) e  $72 \text{ mg kg}^{-1}$  (Zn). Kausar et al. (2012) refere-se ainda ao potencial da espécie na remoção de Cr de águas residuais contaminadas, e Bonano (2012) sugere que o *Arundo donax* L. pode ser utilizado na fitoextração de Al, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb e Zn de sedimentos e de corpos de água. A espécie acumula preferencialmente nas componentes subterrâneas. Os estudos apresentados justificam a aplicação desta espécie na fitorremediação de solos contaminados com metais pesados. A espécie tolera diversos metais e diferentes concentrações, produzindo, simultaneamente, elevadas produções.

Como tal, o principal objectivo deste trabalho é o de avaliar o crescimento, a produtividade e a qualidade da biomassa de *Arundo*, em solos contaminados com Zn e Cr, sob diferentes regimes de irrigação. Pretende-se portanto, tal como enunciado no capítulo introdutório, avaliar o comportamento da planta em situações não só de contaminação mas também de diferentes disponibilidades hídricas (um problema no contexto do Mediterrâneo).

## 5. Descrição dos ensaios, materiais e métodos

O conjunto de ensaios e trabalhos realizados no contexto deste trabalho inserem-se no projecto OPTIMA – *Optimization of Perennial Grasses for Biomass Production* – financiado pela União Europeia, cujo objectivo principal é a identificação de plantas herbáceas perenes de elevada produtividade na região Mediterrânica, que inseridas numa cadeia de produção otimizada forneçam uma fonte estável, tanto para energia como para biomateriais. O projecto OPTIMA ambiciona também explorar as potencialidades das culturas herbáceas perenes em solos marginais ou subutilizados, através de uma abordagem interdisciplinar, em particular nas áreas da fisiologia vegetal, biotecnologia e agronomia, assim como através da análise socioeconómica e ambiental da fileira de produção e utilização. Trata-se de um consórcio de 21 parceiros, que envolve Universidades, Centros de Pesquisa, e empresas maioritariamente europeias, mas também da Argentina, Índia e China. O presente trabalho situa-se em diversas temáticas do projecto, mas está maioritariamente centrado no tema relativo aos estudos ambientais em culturas perenes. Nesta área pretende-se explorar as implicações ambientais específicas das culturas perenes em terrenos marginais, com ênfase particular na avaliação da produtividade e qualidade da biomassa, nas relações entre solos e biomassa, no desenvolvimento radicular e armazenamento de carbono no solo, no balanço energético da fileira para energia, possibilidades de usos em fitorremediação, e mitigação da erosão do solo pelas gramíneas perenes seleccionadas.

Com o objectivo de avaliar as potencialidades da espécie *Arundo donax* L. na fitorremediação de solos contaminados com os metais pesados Zn (450 e 900 mg Zn kg<sup>-1</sup>, matéria seca) e Cr (300 e 600 mg Cr kg<sup>-1</sup>, matéria seca) com diferentes regimes de fornecimento de água: 950 mm, 475 mm e 238 mm, durante 2 ciclos de crescimento da cultura, foram realizados vários ensaios de fitotoxicidade, efectuados em vasos. Pretendeu-se avaliar a capacidade remediadora do *Arundo* com diferentes regimes hídricos, uma vez que a utilização do recurso água pode representar um problema em algumas zonas do mediterrâneo, devido à sua escassez.

A contaminação controlada dos solos dos vasos foi efectuada com lamas residuais industriais (LRI's). Para a contaminação dos vasos com Zn foi utilizada uma lama contendo 3.54% de Zn (matéria seca), entre outros metais, fornecida por uma empresa de tratamentos de resíduos, a CIRVER-SISAV – Centro Integrado de Recuperação, Valorização e Eliminação de Resíduos. Não é conhecida a indústria de proveniência destas lamas. Para a contaminação dos vasos com Cr foi utilizada uma lama contendo um valor médio de 7600 mg.kg<sup>-1</sup> de Cr (matéria seca), entre outros metais, assim como azoto e fósforo. Esta lama foi-nos cedida pela AUSTRA, Associação

de Utilizadores de Sistemas de Tratamento de Águas Residuais de Alcanena, que opera em parceria com o CTIC, Centro Tecnológico das Indústrias do Couro, em Alcanena.

O estudo experimental da presente tese inclui um conjunto de ensaios realizados em vasos, assim como diversas análises físico-químicas aplicadas às lamas, aos solos, às águas de irrigação e de percolação, e, à biomassa produzida nos vasos. A gama de concentrações escolhida apresenta os valores máximos permitidos no Decreto-Lei nº 276/09, de 2 de Outubro (transposição da Directiva nº 86/278/CEE do Conselho, de 12 de Junho), e o dobro dessa concentração, para ambos os metais. A escolha dos dois metais analisados remete para as diferentes mobilidades no solo, pretendendo-se estudar o comportamento remediador da planta, perante dois metais de naturezas químicas distintas. A escolha de diferentes níveis de irrigação pretende investigar, para além do que foi indicado anteriormente, por um lado, a influência de diferentes disponibilidades hídricas no transporte de nutrientes para a planta, podendo por isso também influenciar as produtividades e respectivos parâmetros morfológicos; por outro, pode influenciar a absorção de metais, ou mesmo interagir com as diferentes concentrações e elementos metálicos testados. A escolha dos volumes de irrigação (mm) levou em conta as necessidades hídricas médias para a planta, entre o volume médio anual que normalmente chega por precipitação e aquele que tem de ser compensado por irrigação (Mantineo et al., 2009; El Bassam, 2010). Na rega foi utilizada água da torneira, proveniente do Laboratório 145 do Edifício Departamental (FCT-UNL).

O conjunto de ensaios pretende alcançar os seguintes objectivos:

- Analisar o efeito da contaminação dos solos com Zn ou Cr nos parâmetros de crescimento, produtividade e qualidade da biomassa da planta *Arundo donax* L. com diferentes regimes de fornecimento de água (950, 475 e 238 mm).
- Quantificar a transferência de metais, dos solos para as plantas cultivadas nos vasos;
- Determinar a eficiência da fitorremediação/ remoção (fitoextração) de Zn e Cr dos solos, por componente das plantas (caules, folhas, raízes e rizomas), nos diferentes fornecimentos hídricos;
- Estudar o comportamento do Zn e do Cr nos solos contaminados;
- Identificar possíveis relações solo-planta, em termos dos metais em análise;
- Caracterizar as águas de irrigação e de percolação, de modo a avaliar possíveis riscos de contaminação das águas subterrâneas;
- Determinar se os fornecimentos hídricos apresentam um efeito dominante nas produtividades, absorção de nutrientes essenciais e metais e no processo de fitorremediação.
- Efectuar uma análise de sustentabilidade ambiental da aplicação da espécie *A. donax* L. na fitorremediação de solos contaminados com Zn e Cr.



## 5.1. Métodos

### 5.1.1. Metodologias aplicadas às lamas residuais industriais.

O trabalho experimental desenvolvido inclui a caracterização físico-química das lamas residuais industriais provenientes de dois centros empresariais. As lamas contendo crómio foram recolhidas na ETAR de Alcanena, gerida pela parceria existente entre o Centro Tecnológico das Indústrias do Couro (CTIC) e a Associação de Utilizadores do Sistema de Tratamento de Águas Residuais de Alcanena (AUSTRA). No caso das lamas contaminadas com Zn, foram fornecidas pela empresa CIRVER-SISAV, Centro Integrado de Recuperação, Valorização e Eliminação de Resíduos, localizada no Eco Parque do Relvão (Chamusca).

O CTIC é uma infra-estrutura tecnológica da indústria de curtumes nacional que coopera com a AUSTRA. Esta associação, efectua a gestão do *Sistema Alcanena*, composto por uma ETAR, um aterro de lamas, um aterro de resíduos sólidos industriais (indústria de curtumes) e um sistema de recuperação de crómio (SIDRECO). A ETAR de Alcanena é constituída por gradagem e tamisagem para redução de sólidos, uma unidade de desarenação e desengorduramento, dois tanques de equalização e homogeneização para tratamento de águas residuais industriais com capacidade de 5000 m<sup>3</sup> (cada) que permitem a oxidação dos sulfuretos existentes nas águas, tratamento químico, tratamento biológico (arejamento e lamas activadas), decantação para remoção de aglomerados e partículas, e uma unidade de tratamento da fase sólida (espessamento, desidratação e estabilização de lamas). Após espessamento e desidratação, as lamas são estabilizadas e destinadas a um aterro. Na unidade de recuperação de crómio, o metal contido nos banhos residuais da fase de curtimenta provenientes das fábricas de curtumes é eliminado (extraído) e recuperado em grandes quantidades, evitando-se o aporte de cargas tóxicas afluentes aos tratamentos físico-químicos e biológicos, mediante um processo de precipitação do crómio trivalente sob a forma de hidróxido de crómio, prensagem seguida de dissolução com ácido sulfúrico e nova prensagem, obtendo-se sulfato básico de crómio como produto final, com valor económico no mercado (CTIC, 2014).

O CIRVER-SISAV opera numa área equivalente a 34 hectares, trata uma média de 150000 Mg de resíduos industriais por ano, com capacidade máxima de 315000 Mg de resíduos industriais por ano, tendo por objectivo tratar de forma adequada resíduos industriais perigosos de diferentes proveniências, com base em determinadas operações específicas: a) tratamento de óleos usados, solidificação/estabilização; b) deposição em aterro de resíduos perigosos; c) descontaminação de solos; d) valorização de embalagens; e) transferência; f) tratamento físico-químico de resíduos orgânicos e inorgânicos; g) tratamento biológico e evapo-oxidação de efluentes líquidos; e, h) desidratação de lamas (TECNINVEST, 2005). Dentro dos diversos

tipos de resíduos tratados, a unidade tratava em 2010, 139 Mg de lamas e bolos de filtração contendo substâncias perigosas – resíduos de tratamentos químicos de superfície e revestimentos de metais, assim como outros materiais resultantes das indústrias de galvanização, zincagem, decapagem, contrastação, fosfatação, desengorduramento alcalino e anodização – com o intuito de valorizar metais (APA, 2011). Não nos foi informada a origem das lamas de zinco, pelo que a caracterização da indústria que as originou não pode ser feita.

Em Alcanena, as amostras foram colhidas manualmente, à saída do processo de tratamento, após desidratação mecânica e estabilização química. Utilizou-se material de plástico, tanto na colheita como na armazenagem: pá, balde e sacos; de modo a evitarem-se contaminações metálicas sem alteração das características das lamas. Foram usados sacos de plástico, depois colocados em bidões, também de plástico, para o transporte e armazenagem das lamas nas instalações da FCT-UNL. O mesmo procedimento para a armazenagem nas instalações FCT-UNL foi utilizado para as lamas de Zn, provenientes da CIRVER-SISAV. O reduzido volume de lamas a usar nos ensaios facilitou a sua homogeneização, tendo sido retirada uma amostra representativa para a realização das análises. A amostra foi armazenada num frasco de vidro e colocada num local seco e fresco, até ser analisada, tal como é indicado por Dyckhoff et al. (1996). Antes de serem analisadas, as amostras das lamas foram secas em estufa à temperatura de 25-30°C, tal como é indicado por Dyckhoff et al. (1996) e Baize (2000). As determinações de pH, condutividade e teor de humidade foram realizadas nas amostras húmidas, de acordo com a indicação de Domingues (1999). O teor de humidade serviu para avaliar a massa de lama húmida necessária para cada ensaio. Os métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das LRI's apresentam-se no **Quadro 5.1**.

A matéria orgânica da lama foi determinada de forma directa, por incineração entre 105°C e 500°C. No entanto, estes resultados podem ser falseados pela presença de substâncias minerais, tais como sais minerais hidratados, susceptíveis de se oxidarem ou decomporem no intervalo destas temperaturas (ANRED, 1984). Não dispondo de um analisador elementar para determinação do carbono orgânico e do carbono total (Norma ISO 10694, 1995), recorreu-se assim a este método de análise por ser o mais utilizado no laboratório do DCTB, apesar do reduzido rigor do mesmo.

**Quadro 5.1** – Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química e da ecotoxicidade das lamas de Zn e Cr.

Parâmetros	Métodos analíticos
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (8h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (Baize, 2000).
Resíduo após calcinação	Peso de amostra incinerada a $500 \pm 25^\circ\text{C}$ (5h), em relação à amostra seca $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (Haigh e Dyckhoff, 1996; Watts e Halliwell, 1996).
pH	Determinação efectuada por potenciometria com eléctrodo de vidro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 de acordo com a Norma Portuguesa NP EN 12176 (2000).
Condutividade	Determinação efectuada com um condutivímetro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 (Baize, 2000).
Azoto Kjeldahl	Método Kjeldahl: Mineralização com $\text{H}_2\text{SO}_4$ , destilação e titulação do destilado com $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0.02N (Haigh e Dyckhoff, 1996; Watts e Halliwell, 1996; Baize, 2000).
Nitratos, nitritos	Extracção com KCl 1N, na razão L/S igual a 2.5 (Haigh e Dyckhoff, 1996). Redução dos nitratos a nitritos, por contacto do extracto filtrado com pó de zinco (Palintest Ltd). Os nitritos são determinados por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado vermelho-púrpura, pela combinação do ácido sulfanílico diazotado com NED (Jenkins <i>et al.</i> , 1996).
Azoto amoniacal	Extracção com KCl 1N, na razão L/S igual a 2.5. Destilação do extracto, titulação do destilado com $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0.02N (Haigh e Dyckhoff, 1996).
Fósforo total	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Determinação dos fosfatos do digerido (Watts e Halliwell, 1996).
Fosfatos extraíveis	Extracção com $\text{NaHCO}_3$ 0.5M, na razão L/S igual a 200 (Olsen <i>et al.</i> , 1954). Determinação dos fosfatos no extracto filtrado, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe e Olsen, 1965).
Zn, Cu, Na, K, Ca, Mg, Pb, Cd, Cr, Ni, Hg, As, Al, Fe e Mn	<sup>1</sup> Água-régia: Digestão com água-régia de acordo com a Norma ISO 11466 (1995). Determinação dos metais, no digerido, por espectrofotometria de absorção atómica.
Ensaio de ecotoxicidade	Para o ensaio de ecotoxicidade foram obtidos extractos aquosos das amostras de solos de acordo com a norma EN 12457-4 (2002). Para uma razão de 10 L/kg, as amostras foram agitadas a 150 rpm durante 24 horas a $20^\circ\text{C}$ . Após este período, deixou-se decantar e o sobrenadante foi filtrado sendo a fase aquosa testada para a toxicidade aguda utilizando o Sistema Microtox®. Este sistema é um bioanalizador que utiliza bactérias luminescentes <i>Vibrio fischeri</i> NRRL B-11177 como organismo-teste (DeVetter <i>et al.</i> , 2008).

O azoto Kjeldahl é geralmente considerado como equivalente ao azoto total, embora corresponda ao somatório do azoto orgânico com o azoto amoniacal. Os azotos nítricos e nitrosos não são detectados por esta metodologia. Esta pode, inclusive, conduzir à sua perda, pela formação de ácido nítrico gasoso e de óxidos de azoto, que se podem libertar para a atmosfera (Haigh e Dyckhoff, 1996).

A determinação do fósforo é obtida por digestão com  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , contabilizando-se apenas o fósforo que não está contido na fracção silicatada.

Os metais foram extraídos das lamas por digestão com água-régia, um método analítico rápido referenciado pelo Decreto-Lei 276/2009 (que estabelece o regime jurídico da utilização agrícola de lamas de depuração) e usado pela maioria dos Países da União Europeia. Foram analisados os metais referenciados no Decreto-Lei 276/2009: Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Hg e Pb. Em todas as metodologias, os reagentes químicos apresentavam grau de pureza analítico.

### 5.1.2. Metodologias analíticas aplicadas aos solos.

Este conjunto de metodologias ocorreu em diversas fases: antes da montagem dos ensaios e no decorrer dos ensaios. Assim, o primeiro conjunto de análises aos solos (**Quadro 5.2**) ocorreu imediatamente após a sua recolha numa área do Campus da FCT-UNL (**Figura 5.1**) em Maio de 2012. Os solos foram recolhidos no campo na camada 0-20 cm (Horizonte A). A caracterização mineralógica dos solos do local foi realizada no Laboratório Rebelo da Silva, por não dispormos de toda a tecnologia necessária para a fazermos nas instalações do Laboratório 145 (FCT-UNL)(em anexo). Não se procedeu à caracterização do perfil do solo do local de recolha de amostras, não se dispondo portanto da pedogénese do local, textura e permeabilidade. Na fase de recolha foram encontrados escombros e restos de materiais plásticos, de ferros e outros materiais usados na fase de construção do *Campus* da Faculdade (FCT-UNL). Foram realizadas também análises físico-químicas nos solos dos vasos no final do 2º ciclo de crescimento, no sentido de avaliar a evolução e as alterações verificadas na sua composição físico-química. Todas as análises foram efectuadas a amostras de solos de cada vaso a duas profundidades (perfis): 0-20 cm e 20-40 cm.

No contexto do presente trabalho, quando nos referimos a solo, estamos a referir-nos à mistura do solo existente anteriormente (pedogénese e composição do qual não temos acesso) com restos de escombros da fase da construção do Campus. O termo solo utilizado no contexto deste trabalho refere-se à amostra de solo presente em cada vaso – solo do vaso.

Após recolha de solo no campo, efectuada com auxílio de uma pá e uma enxada, e utilizando baldes como recipientes de transporte para o laboratório, o solo colhido foi submetido a destorroamento e crivagem num crivo de malha de 2 mm (Dyckhoff et al.,1996; Baize, 2000; Fernando et al., 2001) antes de ser colocado nos vasos para o ensaio. Nos vasos contaminados foi feita a mistura com as lamas. Na recolha de amostras de solo para análise, as amostras foram secas em estufa, a uma temperatura de 25-30°C, tal como indicado por Fernando (2005). Tal como indicado para as lamas, a determinação do pH, condutividade e humidade foram determinadas nas amostras húmidas, imediatamente após a recolha. Nestes solos colhidos em maio de 2012, realizaram-se as restantes análises indicadas no **Quadro 5.2.** excepto o ensaio da determinação da toxicidade, da respiração do solo e da quantificação dos germes. No final do 2º ciclo vegetativo, em janeiro de 2014, tentou avaliar-se a influência da aplicação de lamas nos solos e a interacção solo-biomassa, tendo-se analisado os parâmetros pH, condutividade, carbono orgânico, azoto e fósforo totais, teores de Zn, Cr e Ca (pois ambas as lamas eram muito

ricas neste elemento), e a toxicidade, a respiração e o nº de germes (estes últimos indicadores da funcionalidade dos solos contaminados face aos solos controlo).

**Quadro 5.2 – Métodos analíticos utilizados na caracterização dos solos.**

Parâmetros	Métodos
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (4h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (NP 84, 1965).
Carbono orgânico	Método Walkley-Black (Walkley e Black, 1934).
pH	Determinação efectuada por potenciometria com eléctrodo de vidro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 (Baize, 2000).
Condutividade	Determinação efectuada com um condutímetro, numa suspensão de terra em água destilada na razão de 1/2.5 (Baize, 2000).
Capacidade de troca catiónica	Determinação pelo método de Chapman a pH 7 com $\text{NH}_4\text{OAc}$ 1M (Ross e Ketterings, 2011).
Nitratos, nitritos	Extracção com KCl 1N, na razão L/S igual a 2.5 (Haigh e Dyckhoff, 1996). Redução dos nitratos a nitritos, por contacto do extracto filtrado com pó de zinco (Palintest Ltd). Os nitritos são determinados por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado vermelho-púrpura, pela combinação do ácido sulfanílico diazotado com NED (Jenkins <i>et al.</i> , 1996).
Azoto amoniacal	Extracção com KCl 1N, na razão L/S igual a 2.5. Destilação do extracto, titulação do destilado com $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0.02N (Haigh e Dyckhoff, 1996).
Azoto Total	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e HCl. Determinação do teor de azoto no digerido (Watts e Halliwell, 1996).
Fosfatos extraíveis	Extracção com $\text{NaHCO}_3$ 0.5M, na razão L/S igual a 200 (Olsen <i>et al.</i> , 1954). Determinação dos fosfatos no extracto filtrado, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanable e Olsen, 1965).
Fósforo total	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Determinação dos fosfatos do digerido (Watts e Halliwell, 1996).
Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Al, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Pb	Água-régia: Digestão com água-régia de acordo com a Norma ISO 11466 (1995). Determinação dos metais, no digerido, por espectrofotometria de absorção atómica.
Respiração do solo	Medição da respiração do solo, pelo método respirométrico (Sistema OxiTop®) (ISO 16072, 2002).
Ensaio de ecotoxicidade	Para o ensaio de ecotoxicidade foram obtidos extractos aquosos das amostras de solos de acordo com a norma EN 12457-4 (2002). Para uma razão de 10 L/kg, as amostras foram agitadas a 150 rpm durante 24 horas a $20^\circ\text{C}$ . Após este período, deixou-se decantar e o sobrenadante foi filtrado sendo a fase aquosa testada para a toxicidade aguda utilizando o Sistema Microtox®. Este sistema é um bioanalizador que utiliza bactérias luminescentes <i>Vibrio fischeri</i> NRRL B-11177 como organismo-teste (DeVetter <i>et al.</i> , 2008).
Germes totais a $22^\circ\text{C}$	Sementeira por incorporação de determinada quantidade da suspensão-mãe e das respectivas diluições decimais, em meio de cultura apropriado (meio Plate Count Agar, Becton, Dickinson and Company). Incubação das placas semeadas, durante $68 \pm 4$ h à temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , em aerobiose. Cálculo do número de microrganismos por grama de solo, a partir do número de colónias desenvolvidas nas placas seleccionadas. (ISO 6222, 1999)

Para o pH e condutividade foram pesadas 10g de amostra do solo (Balança Ohaus Explorer Pro) e adicionados 25 mL de água desionizada, o conteúdo foi agitado durante 30 minutos e utilizados um medidor de pH com eléctrodo de vidro (micropH2001, Crison) e um conductímetro (MC226, Todelo), para obtenção do pH e condutividade da solução, respectivamente.

Para calcular a concentração total dos metais Zn/Cr presentes nas amostras de solo, foi pesada 1g de solo seco (Balança Ohaus Explorer Pro) para um tubo de vidro, adicionados 10 mL de

água régia ( $\frac{3}{4}$  HCl concentrado (37%, p/p) +  $\frac{1}{2}$  HNO<sub>3</sub> concentrado (65%, p/p). Procedeu-se à sua digestão durante 4 horas a 140°C, num termoreactor Merck. No final da digestão, a solução foi filtrada para um balão volumétrico de 100 mL perfazendo-se a esse volume. Na filtração utilizaram-se filtros Whatman<sup>TM</sup> da GE Healthcare Life Sciences. A análise dos metais foi efetuada por espectroscopia de absorção atómica (extracto bruto ou nas diluições) As análises realizadas aos metais foram efectuadas nos extractos obtidos, por espectrofotometria de absorção atómica (Espectrofotómetro de Absorção Atómica SOLAAR Thermo Electron Corporation M Series), com chamas de acetileno/ar ou acetileno/protóxido de azoto. Com a extracção com água-régia pretende-se quantificar a quantidade total de metais presentes no solo, solúveis e não solúveis. Esta solução de água-régia não nos permite aceder à fracção de metais presentes na fracção silicatada. Tal fracção é desconsiderada neste estudo por ser inacessível para as plantas e por dificilmente poder ser libertada para o ambiente ou tornada disponível na cadeia alimentar (Fernando, 2005). O valor apresentado para a concentração total de zinco/crómio no solo inclui quer as fracções móveis e biodisponíveis de cationes quer as espécies metálicas desse metal fixas aos minerais, que normalmente não estão disponíveis.

Para calcular a fracção biodisponível dos metais nos solos, pesaram-se 1g de solo seco (Balança Ohaus Explorer Pro) e misturaram-se com 20 mL de solução de EDTA 0,05M a pH 7,5 (Iqbal et al., 2013). As soluções foram agitadas durante 24h a cerca de 120 batimentos/min (Agitador Tuttnauer Co. Jerusalem). Os teores de metais foram determinados posteriormente por espectroscopia de absorção atómica, no filtrado (Whatman<sup>TM</sup> da GE Healthcare Life Sciences). De acordo com Gupta *et al.* (1996) e Ure (1996) os extractos obtidos com EDTA reflectem a disponibilidade dos metais quer a curto prazo, quer a médio e longo prazo. Assim, as informações dadas por estes ensaios podem reflectir a quantidade de metal passível de ser complexada, por exemplo, mediante exsudados (como o acetato) libertados pelas raízes das plantas, indicando-nos também se os solos são passíveis de ser fitorremediados, por correlação com os teores de Zn extraídos pela biomassa.

Para determinar a quantidade de metais que poderiam ser lixiviados, por troca iónica com a solução do solo, ou por intermédio da água da chuva, foram pesadas 2,5g de solo (Balança Ohaus Explorer Pro) e adicionados 25 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,01M (Pueyo et al., 2004). Agitaram-se as amostras por 2 horas, a cerca de 120 batimentos/min (Agitador Tuttnauer Co. Jerusalem), e os metais foram determinados por espectroscopia de absorção atómica. A concentração de metais em solução foi obtida por espectrometria de absorção atómica, no filtrado (Whatman<sup>TM</sup> da GE Healthcare Life Sciences). Representa essencialmente a fracção disponível para as plantas ou mobilizável em ambientes de força iónica média. Num contexto de avaliação de risco, pode

considerar-se que as fracções móveis e biodisponíveis poderão ser assimiladas pelas plantas ou perder-se por lixiviação para os lençóis freáticos.

Estes extractantes utilizados de forma singular ou de forma sequencial, não se apoiam em fundamentos teóricos consistentes, mas foi demonstrado o seu interesse prático quer em estudos de avaliação ambiental quer em estudos laboratoriais (Davies e Jones, 1992).

### **5.1.3. Metodologias analíticas aplicadas às plantas.**

Neste ponto apresenta-se o conjunto de metodologias analíticas e parâmetros medidos nas plantas de *Arundo donax* L., no sentido de avaliar a influência dos factores de tensão produzidos nos vasos, no desenvolvimento das plantas. Entende-se por desenvolvimento vegetal a sequência de eventos que normalmente ocorrem numa determinada espécie de uma forma ordenada e precisa, que operando conjuntamente produzirão um indivíduo adulto capaz de produzir todas as suas estruturas florescer, produzir frutos, senescer e eventualmente morrer. Face às condições testadas nos nossos ensaios, são esperadas perturbações neste ciclo de eventos para a espécie testada, e o conjunto de análises e medições descritas de seguida tem por finalidade avaliar o grau dessa perturbação. Convém recordar que todas as análises e medições descritas aqui foram realizadas quer em amostras contaminadas quer em amostras sem contaminação, e todas realizadas em vasos. Não foi desenvolvido nenhum tipo de ensaio em campo, e por isso as condições controlo (aqui consideradas como correspondendo à situação de desenvolvimento normal das plantas) estão circunscritas aos efeitos dos vasos sobre as mesmas, não tendo sido desenvolvido nenhum conjunto de análises ou metodologias que estabeleçam esse efeito e o respectivo grau nos parâmetros de crescimento das espécies vegetais testadas.

Nas plantas, o crescimento é avaliado por aumento em tamanho ou em massa. Os aumentos em tamanho são normalmente obtidos pela medição da expansão numa única direcção, caso da altura e diâmetro dos caules ou a área das folhas. No final de cada ciclo vegetativo, imediatamente após o corte da parte aérea das plantas, mediram-se os seguintes parâmetros biométricos: altura do caule, diâmetro basal do caule, número de plantas por vaso, número de folhas e área foliar. A altura dos caules foi medida com recurso a uma fita métrica, desde a base (cortada ao nível do solo no vaso) até ao ápice (topo do caule). O diâmetro dos caules foi medido num paquímetro digital (sem marca). A área foliar foi determinada num medidor de área foliar Li-3100C Area Meter da marca LI-COR Biosciences. O índice de área foliar ( $\text{cm}^2 \text{cm}^{-2}$ ) foi calculado com base na razão entre o somatório das áreas foliares correspondentes a todas as plantas de um determinado vaso ( $\text{cm}^2$ ), pela área do respectivo vaso ( $\text{cm}^2$ ):

$$\text{Índice de Área Foliar} = \frac{\sum \text{Área Foliar no Vaso}}{\text{Área do vaso}}$$

A área dos vasos correspondeu a 615,75 cm<sup>2</sup>. Para além destes parâmetros foram ainda contados os números de nós e as distâncias de entrenós, com recurso à fita métrica.

Para as componentes subterrâneas registou-se o comprimento da maior raiz no final do 2º ciclo de crescimento. Os vasos foram virados ao contrário e após retirado o conjunto solo-rizoma-raiz do vaso, e depositado num recipiente de plástico (com o intuito de minimizar as perdas de solo e material vegetal durante a operação), rizomas e raízes foram separados do solo. Retiradas as raízes e rizomas de cada vaso, a terra foi removida com recurso a um pincel (trincha), ou mediante manuseamento, com a devida protecção (luvas de latex) dos conteúdos metálicos das lamas previamente misturadas nos solos. O comprimento das raízes foi medido com recurso a uma fita métrica, desde o ponto de corte (que dividiu as componentes aéreas das subterrâneas) até à extremidade radicular mais longa, estendendo-se longitudinalmente as raízes numa bancada do laboratório.

Quando estamos interessados na produtividade da planta é preferível utilizar a matéria seca para avaliação do crescimento, geralmente obtida por pesagem das fracções das plantas após secagem da matéria fresca numa estufa de vácuo a (40°C), durante um período de 48h (Dyckhoff *et al.*, 1996).

A determinação da produtividade aérea das plantas foi realizada no final de cada ciclo vegetativo (janeiro de 2013 e novembro de 2013) através da pesagem da sua parte aérea. A fracção radicular foi avaliada apenas no final do 2º ciclo vegetativo. A parte aérea foi subdividida em folhas e caules, e a subterrânea em raízes e rizoma. Na parte aérea foram igualmente contabilizadas as folhas secas (manta morta, MM) e a biomassa não *Arundo* (ervas daninhas, BNA). As amostras (cada fracção) foram pesadas e obtidos os respectivos pesos frescos. Após determinação da massa fresca e separação da biomassa nas diferentes fracções, as plantas foram secas a 40°C, durante 48h, numa estufa de vácuo, sendo depois pesadas novamente, para determinação da massa seca (Dyckhoff *et al.*, 1996). Os cálculos das produtividades, expressos em g.m<sup>-2</sup>, para as diferentes componentes (caules, folhas rizomas e raízes) basearam-se na seguinte equação geral:

$$\text{Produtividade} = \frac{\text{Peso seco da componente da planta (g)}}{\text{Área do vaso (m}^2\text{)}}$$

A biomassa seca foi acondicionada em sacos de plástico devidamente identificados, tendo sido posteriormente armazenada num local seco e fresco até o seu conteúdo ser analisado. O teor de humidade foi calculado, tendo sido tomado em consideração nas determinações e cálculos.



As diferentes fracções da biomassa de *Arundo donax* L. foram analisadas quimicamente. O **Quadro 5.3** apresenta os métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das diferentes fracções das plantas.

**Quadro 5.3** – Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química das plantas.

Parâmetros	Métodos analíticos
Humidade	Perda de peso após secagem a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (2h), repetida até peso constante, expressa em relação à amostra húmida (AOAC, 1990).
Cinzas	Resíduo mineral obtido após incineração a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 3 h (AOAC, 1990).
Azoto total	Método Kjeldahl: Mineralização com $\text{H}_2\text{SO}_4$ , destilação e titulação do destilado com $\text{H}_2\text{SO}_4$ 0.02N (Watts e Halliwell, 1996).
Fósforo total	Digestão a quente com $\text{HNO}_3$ e $\text{H}_2\text{SO}_4$ (Watts e Halliwell, 1996). Determinação dos fosfatos no digerido, por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe e Olsen, 1965).
Zn, Cu, Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Al, Pb, Cr, Ni, Cd	Mineralização das amostras por via seca (incineração em mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ ) e dissolução das cinzas com ácido nítrico (Vandecasteele e Block, 1993). Determinação dos metais, nos extractos, por espectrofotometria de absorção atómica.
Fibra total e fracções	Extração sequencial de hemiceluloses, celulose e lenhina, utilizando detergente neutro, ácido e $\text{H}_2\text{SO}_4$ 72% (Adrian <i>et al.</i> , 2000).

Na determinação dos metais, a dissolução das cinzas foi efectuada com ácido nítrico. Este ácido possibilita o ataque oxidativo a metais que não se dissolvem em HCl ou noutros ácidos não-oxidantes (Vandecasteele e Block, 1993).

#### 5.1.4. Metodologias analíticas aplicadas à água utilizada na irrigação e aos percolados.

O trabalho experimental desenvolvido incluiu a caracterização da água da torneira e dos percolados obtidos. As análises efectuadas nestas amostras são indicadas no **Quadro 5.4**.

As águas de rega foram analisadas semestralmente. A primeira recolha das águas percoladas foi efectuada no início do ensaio e as restantes com uma periodicidade semestral, de modo a avaliar a sua evolução temporal. Quando estas amostras não eram imediatamente analisadas, foi efectuada a sua conservação em frigorífico, de acordo com a norma ISO 5667-3 (1985). Para tal as amostras foram filtradas por filtro de membrana, com uma porosidade de  $0.45 \mu\text{m}$ , sendo depois acidificadas a  $\text{pH} < 2$  com  $\text{HNO}_3$  e armazenadas em frasco de plástico. Foi ainda determinado o volume recolhido, para se poder fazer um balanço hídrico e de alguns elementos, nomeadamente de Zn e Cr. Na água de rega determinaram-se todos os parâmetros indicados no **Quadro 5.4**, excepto a determinação do  $\text{CBO}_5$ , da toxicidade e do nº de germes. Nos percolados, pretendeu-se avaliar os efeitos das lamas e da interacção solo-biomassa na

qualidade destas águas, tendo-se analisado os seguintes parâmetros: pH, condutividade, oxidabilidade e CBO<sub>5</sub>, Zn e Cr e a toxicidade e nº de germes.

**Quadro 5.4:** Métodos analíticos utilizados na caracterização das águas utilizadas na irrigação e das águas de percolação.

Parâmetros	Métodos Analíticos
pH	Eletrometria (APHA <i>et al.</i> , 1985)
Condutividade	Determinação com um condutivímetro (ISO 7888, 1985)
Carência bioquímica de oxigénio (CBO <sub>5</sub> , 20°C).	Determinação do consumo de oxigénio dissolvido após 5 dias de incubação a 20°C, ao abrigo da luz, com adição de um inibidor da nitrificação, de acordo com as normas ISO 5815-1 e -2 (2003)
Oxidabilidade	Oxidação pelo permanganato de potássio, a quente, em meio ácido, da matéria orgânica presente nas amostras. Determinação do permanganato consumido pela adição de um excesso de oxalato, seguindo-se a titulação com permanganato (APHA, AWWA e WPCF, 1995).
Fosfatos	Determinação dos fosfatos por espectrofotometria de absorção molecular, através da formação de um complexo corado com uma solução de molibdato de amónio, na presença de ácido ascórbico e de tartarato de potássio e antimónio (Watanabe e Olsen, 1965; ISO 6878-1, 1986)
Azoto amoniacal	Destilação, titulação do destilado com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.02N (ISO 5664, 1984)
Nitritos, Nitratos	Redução dos nitratos a nitritos, por contacto do extrato filtrado com pó de zinco (Palintest Ltd). Determinação dos nitritos por espectroscopia de absorção molecular, através da formação de um complexo corado vermelho-púrpura, pela combinação do ácido sulfanílico diazotado com NED (ISO 6777, 1984; Jenkins <i>et al.</i> , 1996)
Cloretos	Determinação por volumetria de precipitação com recurso ao AgNO <sub>3</sub> (método de Mohr). (APHA <i>et al.</i> , 1985).
Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Zn	Determinação dos metais, por espectroscopia de absorção atómica (APHA, AWWA e WPCF, 1995).
Ensaio de ecotoxicidade	Para o ensaio de ecotoxicidade, os percolados foram testados para a toxicidade aguda utilizando o sistema Microtox®. Este sistema é um bioanalizador que utiliza bactérias luminescentes <i>Vibrio fischeri</i> NRRL B-11177 como organismo-teste, de acordo com DeVetter <i>et al.</i> (2008).
Germes totais a 22°C	Sementeira por incorporação de determinada quantidade da suspensão-mãe e das respectivas diluições decimais, em meio de cultura apropriado (meio Plate Count Agar, Becton, Dickinson and Company). Incubação das placas semeadas, durante 68 ± 4 h à temperatura de 22 ± 2 °C, em aerobiose. Cálculo do número de microrganismos por grama de solo, a partir do número de colónias desenvolvidas nas placas selecionadas. (ISO 6222, 1999)

## 5.2. Montagem dos ensaios

Antes da montagem dos ensaios, procedeu-se à recolha dos solos e rizomas no Campus da FCT-UNL (Figura 5.1) em Maio de 2012. Os rizomas foram escolhidos com base nas suas reservas, e massas (massa média de 79 g). Todos apresentavam dimensões semelhantes, e pelo menos um broto por rizoma. Nestes ensaios (**Figura 5.2 e Figura 5.3**), pretendeu estudar-se o desenvolvimento de plantas da espécie *Arundo donax* L. face à contaminação do solo induzida por diferentes concentrações de Zn (450 e 900 mg Zn kg<sup>-1</sup>, matéria seca) e Cr (300 e 600 mg Cr kg<sup>-1</sup>, matéria seca) com diferentes regimes de fornecimento de água: 950 mm, 475 mm e 238 mm, durante 2 ciclos de crescimento da cultura, em ensaios conduzidos em vasos (**Quadro 5.5**).



**Figura 5.1** – Vista aérea das instalações da FCT-UNL, do Edifício Departamental onde se localiza a varanda onde foram montados os ensaios, dos locais de recolha dos rizomas e do local de recolha dos solos.

As concentrações metálicas escolhidas apresentam os valores máximos permitidos no Decreto-Lei nº 276/09, de 2 de Outubro, assim como o dobro dessa concentração, quer para o Zn, quer para o Cr. Foi efectuado também um ensaio controlo, com solos não contaminados.

**Quadro 5.5** – Metais estudados, níveis de contaminação testados e níveis de fornecimento hídrico testados.

Metal	Concentração no solo ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Fornecimento hídrico (mm)
Zn	C1 - 450	C1- (I1-950mm); C1 - (I2-475mm); C1- (I3-238mm)
	C2 - 900	C2- (I1-950mm); C2 - (I2-475mm); C2- (I3-238mm)
Cr	C1 - 450	C1- (I1-950mm); C1 - (I2-475mm); C1- (I3-238mm)
	C2 - 900	C2- (I1-950mm); C2 - (I2-475mm); C2- (I3-238mm)

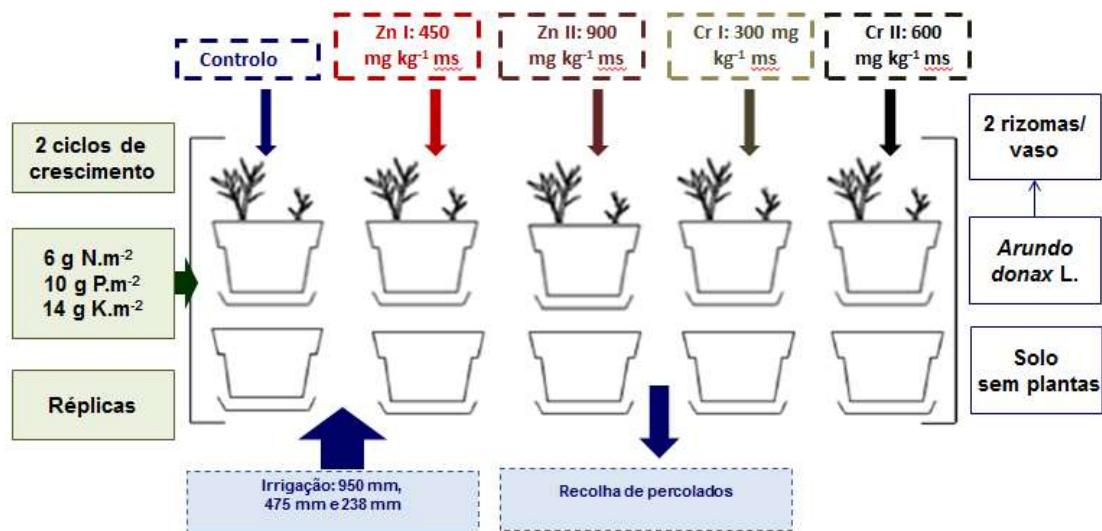
Os volumes hídricos fornecidos foram decididos com base nos volumes hídricos normalmente fornecidos por irrigação (300-700 mm, El Bassam, 2010), ou entendidos como correspondendo às necessidades hídricas da planta (*ca.* 450 mm por irrigação + *ca.* 550 mm por precipitação, Mantineo et al., 2009) encontrados na literatura. Face à literatura consultada e confirmada mais recentemente por Borin et al. (2013) e Nackley et al. (2014) foi fornecido às plantas, por vaso, um volume na ordem dos 900-1000 mm, de modo a obter-se um bom desenvolvimento das

estruturas vegetais. Decidiu-se para efeitos desta experiência que o volume de 950 mm (I1) seria aquele que promoveria um bom desenvolvimento da planta, e assumimos esse volume como o controlo. Adoptamos ainda dois regimes de fornecimento de água distintos e mais baixos: 475 mm (I2) e 238 mm (I3) de modo a verificar se o volume de água fornecido influencia as produtividades, absorção de nutrientes e metais (sucesso de fitoextração).

Foram também recolhidas as águas de percolação, no início dos ensaios, e semestralmente até ao final da experiência antes do corte dos rizomas (janeiro de 2014). Com a análise aos percolados pretende-se averiguar se existem riscos de contaminação dos lençóis freáticos, numa hipotética situação real em que fossem reproduzidas em campo condições edafo-climáticas semelhantes às criadas nos nossos vasos.

Os ensaios foram montados em vasos de plástico com capacidade para 15 kg (Maio-Junho de 2012). Foram também montados ensaios sem plantas, para averiguar o efeito do sistema solo-biomassa na remediação da contaminação. Depois de preparados os solos procedeu-se ao transplante de 2 rizomas por vaso (10 cm de profundidade, conforme Pilu et al., 2012). Em termos de adubação, foram adicionados  $6 \text{ g m}^{-2} \text{ N}$ ,  $14 \text{ g m}^{-2} \text{ K}$  e  $10 \text{ g m}^{-2} \text{ P}$ , em cada vaso, de acordo com El Bassam (1998):  $3 \text{ g N.m}^{-2}$  (Nitrolusal, mistura de  $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{CaCO}_3$ , 27% N);  $17 \text{ g K}_2\text{O.m}^{-2}$  (sulfato de potássio, 51%  $\text{K}_2\text{O}$ ); e,  $23 \text{ g P}_2\text{O}_5.\text{m}^{-2}$  (superfosfato, 18%  $\text{P}_2\text{O}_5$ ), após os primeiros brotos terem rebentado (altura de 30 cm). Quando as plantas atingiram cerca de 50-60 cm de altura foram adubadas com ureia ( $3 \text{ g N.m}^{-2}$ ; 46% N). Repetiu-se a mesma adubação no 2º ano, excepto em termos de fósforo. O trabalho experimental utilizou os adubos comercializados pela empresa ADP – Adubos de Portugal S.A.

Todos os vasos estiveram nas mesmas condições (Edifício Departamental, FCT-UNL), no que concerne aos efeitos da temperatura do ar, temperatura do solo, direcção e velocidade do vento no local dos ensaios, embora não tenham sido realizados ensaios para a quantificação/determinação desses parâmetros.



**Figura 5.2** – Esquema simplificado da montagem dos ensaios.

No final de cada ciclo vegetativo janeiro (2013) / novembro (2013) as componentes aéreas das plantas foram colhidas e analisadas.

No final do segundo ciclo de crescimento procedeu-se à recolha dos rizomas e raízes. No final de cada ciclo vegetativo, determinou-se a produção de cada vaso (matéria seca), nas diferentes fracções da planta (caule, folhas, rizoma e raízes), procedendo-se à caracterização química da biomassa.



**Figura 5.3** – Ensaio em diferentes fases do ciclo vegetativo da planta. À esquerda os brotos no início do ciclo vegetativo (Maio, 2012), e à direita, em Setembro de 2012.

Iguais análises foram realizadas à manta morta e à biomassa de outras herbáceas que também cresceram nos vasos (designada neste trabalho por *Biomassa não-Arundo*). Não se procedeu à classificação taxonómica dessas espécies, e diferentes espécies foram tratadas comumente como pertencendo a iguais amostras. Apesar dos solos terem sido crivados, algumas pequenas

sementes (< 2mm) passaram pelo crivo e conseguiram desenvolver-se. Por acharmos que a sua presença deverá ser também considerada, a sua biomassa foi submetida às mesmas análises que a biomassa de *Arundo donax* L, para balanço dos metais em estudo entre outros componentes. A manta morta, no contexto desta experiência, refere-se sobretudo a folhas secas. Para toda a biomassa presente no vaso, e no caso da planta, para todas as suas fracções (caule, folhas, raízes e rizoma) foram determinados: o teor em cinzas, e os seguintes metais: Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Cd, Cr, Al e Pb. Foram também determinados os teores em azoto e fósforo.

### **5.3. Tratamento Estatístico dos Resultados**

A interpretação estatística dos resultados, em termos da significância das variações obtidas foi efectuada utilizando a Análise de variância – ANOVA factor duplo com repetição. Sempre que se encontrarem diferenças estatisticamente significativas, estas serão apuradas com ANOVA factor único e com teste T.

## 6. Resultados obtidos e sua Discussão

### 6.1 Caracterização das lamas residuais industriais da CIRVER-SISAV (Chamusca)

Antes da montagem dos ensaios (ver ponto 5.2) foi efectuada a caracterização físico-química das lamas residuais industriais (LRI's) da Chamusca, com as quais se procedeu à contaminação artificial dos solos dos vasos com Zn. O **Quadro 6.1** apresenta os resultados dessa caracterização.

**Quadro 6.1** – Caracterização físico-química das LRI's provenientes da Chamusca (CIRVER-SISAV).

Parâmetro		Parâmetro	
pH	6.61±0.06	Na (% ms)	1.17±0.21
Condutividade (mS.cm <sup>-1</sup> )	18.27±0.06	<b>Zn (% ms)</b>	<b>3.54±0.05</b>
Humidade (%)	50.5±0.3	Fe (% ms)	14.5±2.0
Cinzas (% ms)	87.0±0.3	Al (% ms)	0.37±0.13
Azoto (% N, ms)	0.033±0.000	Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	942 ±36
N amoniacal (%N, ms)	0.010±0.000	Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	89±1
Nitritos (mg N.kg <sup>-1</sup> , ms)	0.038±0.018	Cr (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	325±21
Nitratos (mg N.kg <sup>-1</sup> , ms)	2.31±0.68	Pb (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	206±11
Fósforo (% P, ms)	0.81±0.01	Ni (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	151±5
Fosfatos extraíveis (mg P kg <sup>-1</sup> , ms)	181±21	Cd (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	<0.32
Ca (% ms)	4.82±0.36	Hg (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	<0.012
Mg (% ms)	0.58±0.03	As (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	2.10±0.20
K (mg.kg <sup>-1</sup> ms)	246±11		

De acordo com o Decreto-Lei nº 276/09, de 2 de Outubro que estabelece os valores limite de concentração de metais pesados nas lamas destinadas a aplicação no solo agrícola, (Ver capítulo 2, Quadro 2.9), os valores de Zn (3.54 %, ms) são muito superiores ao valor referido na norma (2500 mg.kg<sup>-1</sup>). De acordo com os valores limite fixados para as quantidades anuais de metais pesados que podem ser introduzidos nos solos (nos solos alcalinos, pH > 7, utilizados nos ensaios), foi calculada a dose máxima permitida de lamas a aplicar (ZnI) e o dobro da dose máxima (ZnII). Dessas lamas, foram adicionadas 383 mg.kg<sup>-1</sup> (ms) a solo (12 kg) contendo já 67 mg.kg<sup>-1</sup> (ms), de modo a perfazer-se um total de 450 mg.kg<sup>-1</sup> (ms) (nível de contaminação 1, ZnI). No caso do segundo nível de contaminação (ZnII) procedeu-se de igual modo, mas aos 67 mg.kg<sup>-1</sup> (ms) presentes no solo foram adicionados 833 mg.kg<sup>-1</sup> (ms). As lamas apresentaram ainda mais metais pesados na sua composição, e de acordo com a mesma norma verificou-se

que os níveis de Ni, Pb, Cr, Cd, Hg e Cu estão situados abaixo dos limites legais. Em termos de ecotoxicidade, os extractos podem classificar-se em: a) não tóxicos ( $UT's < 2$ ); b) de baixa toxicidade ( $2 < UT's < 4$ ); c) ligeiramente tóxicos ( $8 < UT's < 16$ ); e muito tóxicos ( $UT's > 16$ ) (De Vetter et al., 2008). Os resultados do ensaio de ecotoxicidade (teste de Microtox) apontam para um  $EC_{50}$  aos 15 minutos de  $24.4 \text{ mg.dm}^{-3}$  (correspondente a 4 UT's) e para um  $EC_{50}$  aos 30 minutos de  $3.11 \text{ mg.dm}^{-3}$  (correspondente a 32 UT's). Face a estes resultados as lamas de Zn podem classificar-se como muito tóxicas.

## 6.2 Caracterização das lamas residuais industriais do CTIC (Alcanena)

**Quadro 6.2** apresenta os resultados da caracterização das lamas de Alcanena com as quais se procedeu à contaminação artificial dos solos dos vasos com Cr.

**Quadro 6.2** – Caracterização físico-química das LRI's provenientes do CTIC (Alcanena)

Parâmetro		Parâmetro	
pH	$6.81 \pm 0.06$	Na ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$5079 \pm 110$
Condutividade ( $\text{mScm}^{-1}$ )	$1.69 \pm 0.11$	Zn ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$318 \pm 17.0$
Humidade (%)	$53.1 \pm 1.1$	Fe (% ms)	$0.37 \pm 0.02$
Cinzas (% ms)	$53.1 \pm 0.1$	Al (% ms)	$0.17 \pm 0.01$
Azoto (% N, ms)	$3.03 \pm 0.2$	Mn ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$402 \pm 24$
N amoniacal (%N, ms)	$0.016 \pm 0.003$	Cu ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$51.4 \pm 4.20$
Nitritos ( $\text{mg N.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$7.73 \pm 1.87$	<b>Cr (<math>\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}</math>)</b>	<b><math>7600 \pm 1374</math></b>
Nitratos ( $\text{mg N.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$12.0 \pm 0.5$	Pb ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$18.7 \pm 1.40$
Fósforo (% P, ms)	$0.38 \pm 0.05$	Ni ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$5.28 \pm 0.06$
Fosfatos extraíveis ( $\text{mg P kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$282 \pm 97$	Cd ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$0.62 \pm 0.17$
Ca (% ms)	$11 \pm 1.8$	Hg ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$0.18 \pm 0.07$
Mg (% ms)	$0.23 \pm 0.01$	As ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$0.59 \pm 0.30$
K ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ )	$188 \pm 49.0$		

De acordo com o Decreto-Lei nº 276/09, de 2 de Outubro que estabelece os valores limite de concentração de metais pesados nas lamas destinadas a aplicação no solo agrícola (Ver capítulo 2, Quadro 2.9), percebe-se que os valores médios de Cr ( $7600 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ ) nas lamas estão muito acima do limite máximo legal ( $1000 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ ms}$ ). As lamas apresentaram ainda mais metais pesados na sua composição, e de acordo com a mesma norma verificou-se que os níveis de Cd, Cu, Ni, Pb, Zn e Hg estão abaixo dos respectivos limites. Os resultados de ecotoxicidade (teste de Microtox), e recorrendo à classificação de De Vetter et al. (2008), apontam para um  $EC_{50}$  aos 15 minutos de  $100 \text{ mg.dm}^{-3}$  (correspondente a 1 UT) e para um  $EC_{50}$  aos 30 minutos



de  $100 \text{ mg.dm}^{-3}$  (correspondente a 1 UT). Face a estes resultados quer aos 15 minutos quer no término de 30 minutos as lamas podem ser classificadas de não tóxicas.

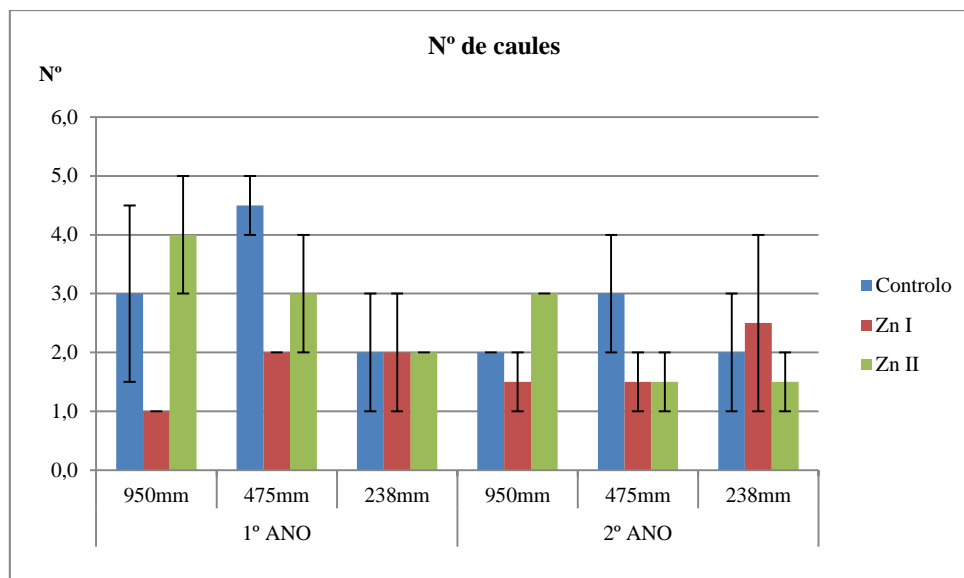
### **6.3 Análise dos parâmetros biométricos e de produtividade da espécie *Arundo donax* L.**

A análise do crescimento vegetativo das plantas de *Arundo donax* L. levará em conta os resultados obtidos para os parâmetros biométricos: número de plantas por vaso, altura média dos caules, diâmetro médio dos caules, índice de área foliar, número de nós, distância média dos entrenós e comprimento das maiores raízes do rizoma. Depois, analisam-se os parâmetros relativos à produtividade das plantas: número médio de folhas por planta, número de plantas por vaso, produtividade dos caules, das folhas, rizomas e raízes (expressa em  $\text{g.m}^{-2}$ ; afecta à área do vaso).

#### **6.3.1 Análise dos parâmetros biométricos**

##### **6.3.1.1 Número de caules por vaso**

Neste ponto referimo-nos ao número total de caules que brotaram e cresceram dos dois rizomas (2 plantas) colocados em cada vaso no início da experiência. Como nem sempre foi possível distinguir de qual rizoma era originário um determinado caule, estes dados foram tratados por vaso (a área do vaso foi a referência também adoptada nos restantes parâmetros). Tal foi mais fácil de verificar no segundo ano de crescimento, mas não no primeiro em que só as componentes aéreas foram retiradas do vaso. Em condições ideais, e portanto em teoria, de rizomas com a mesma massa (em média) e idade, e submetidos às mesmas condições dentro de vasos com iguais tratamentos, deveriam obter-se caules semelhantes nos respectivos parâmetros biométricos, face a idênticas reservas de carboidratos acumuladas (os rizomas foram também retirados de condições edafo-climáticas semelhantes). As **Figura 6.1** e **Figura 6.2** apresentam os resultados para o nº de caules. Os maiores valores obtidos nos ensaios do Zn registaram-se a 475 mm (I2) no 1º e 2º anos, para a amostra controlo. A I3 os valores das amostras contaminadas não parecem diferir entre si. Os resultados da análise de variância (ANOVA – factor duplo com repetição), para a experiência de zinco, apresentam-se no **Quadro 6.3**. O teste apurou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos no primeiro ano ( $P = 0,0490$ ), mas não no segundo. Os níveis de fornecimento hídrico não influenciaram de forma estatisticamente significativa estes resultados.

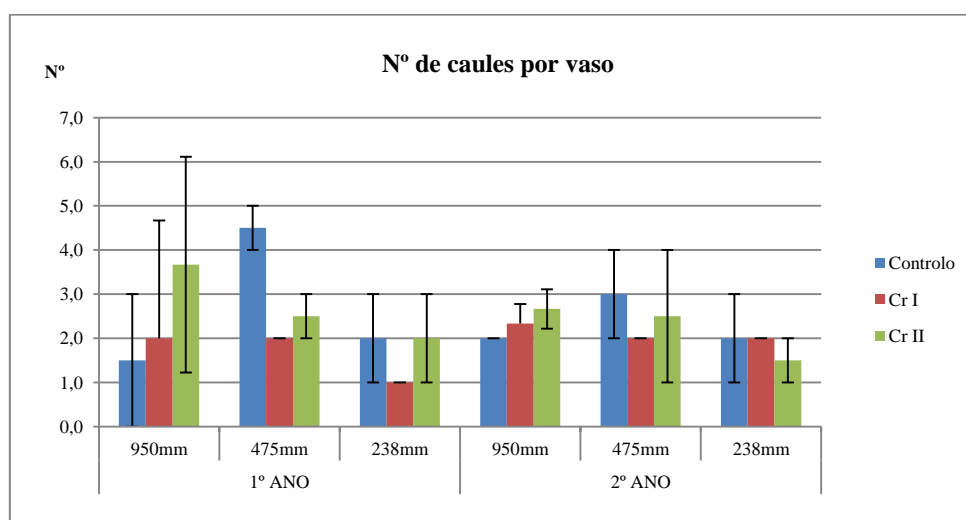


**Figura 6.1:** Número de caules por vaso na experiência de Zn.

**Quadro 6.3** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de caules na experiência de Zn.

Nº de caules; experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0.1694	P = 0.9537
Tratamentos metálicos	P = 0.0490	P = 0.7250
Interacção	P = 0.1782	P = 0.3783

Verificou-se uma tendência crescente no número registado de caules por vaso na experiência de crómio, do controlo para as amostras mais contaminadas, a 950 mm, e mais acentuada no 1º ano. A 475 mm (I2) os resultados são semelhantes na variação entre amostras em ambos os anos: a amostra controlo tem mais caules que a amostra Cr II e esta mais que a Cr I.



**Figura 6.2:** Número de caules por vaso na experiência de Cr.

Os resultados da análise de variância (**Quadro 6.4**) mostram que os regimes de fornecimento hídrico do 1º ano influenciaram a produção de nº de caules de forma muito significativa e que os tratamentos metálicos apresentaram uma menor influência. No segundo ano, nenhum dos factores de forma isolada ou em interacção contribuíram para a existência de diferenças entre os resultados neste parâmetro.

**Quadro 6.4** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de caules na experiência de Cr.

Nº de caules; experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.0002	P = 0.4621
Tratamentos metálicos	P = 0.7674	P = 0.9490
Interacção	P = 0.0061	P = 0.7196

A comparação entre as experiências de Zn e Cr permite-nos verificar que o número de caules é afectado de forma significativa, sobretudo no 1º ano, pelos tratamentos no caso da experiência de Zn, e pelos regimes de fornecimento hídricos, também no 1º ano, no caso do Cr.

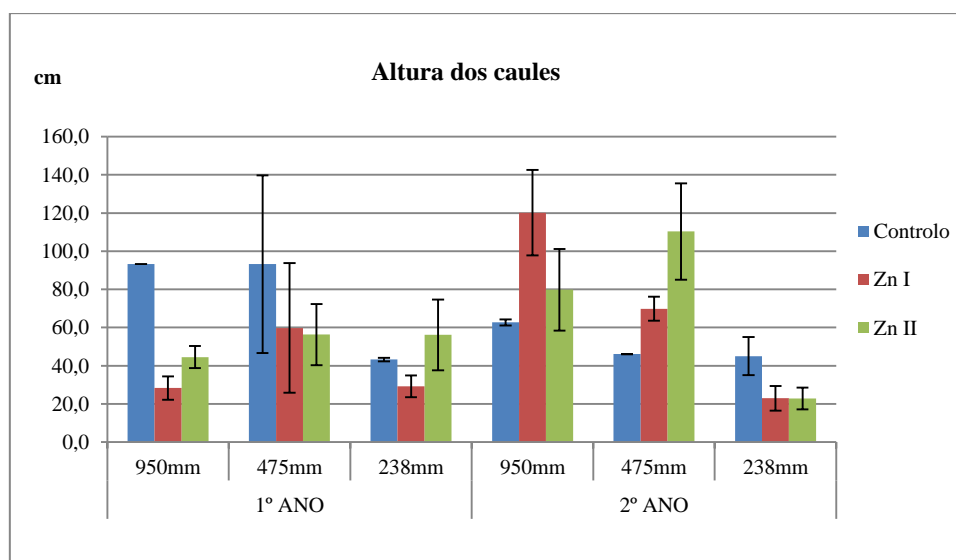
### 6.3.1.2 Altura das plantas

Nas gramíneas como o *A. donax* L. a actividade meristemática fica restrita à região na base de cada entrenó, acima do nó. Os entrenós são constituídos por conjuntos de células maduras na parte superior e células jovens próximas à sua base, derivadas do meristema intercalar. Assim, a altura do caule (**Figura 6.3** e **Figura 6.4**), reflecte o somatório da actividade de todas as regiões meristemáticas activas situadas nos entrenós (que analisaremos mais adiante). O **Quadro 6.5** apresenta os resultados obtidos para as experiências de Zn e Cr, para a altura das plantas.

**Quadro 6.5** – Altura das plantas (cm).

Altura dos caules (cm)	1º Ano			2º Ano		
	Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
950 mm	93.2±9.0	28.4±6.15	44.5±5.80	62.7±1.6	120±22	79.8±21.4
475 mm	93.2±46.6	59.8±33.9	56.3±16.0	46.1±0.1	69.9±6.3	110±25
238 mm	43.3±0.9	29.2±5.7	56.2±18.5	45.1±9.9	23.0±6.5	22.9±5.7
	Cr I			Cr II		
	Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
950 mm	93.2±9.0	53.1±21.5	38.3±17.6	62.7±1.6	68.1±10.1	63.3±6.1
475 mm	93.2±46.6	24.5±20.5	36.9±3.10	46.1±0.1	39.6±7.3	55.1±23.1
238 mm	43.3±0.9	48.0±2.7	41.5±7.6	45.1±9.9	30.7±2.1	40.9±0.7

A média de plantas com maior comprimento foram registadas no segundo ano para a amostra Zn I e a 950 mm (I1) (120 cm), sendo que a maior planta de ambos os ensaios atingiu 146.5 cm na amostra ZnII, I1, no 2º ano. Na amostra ZnII, I2 (475 mm) atingiram-se as segundas médias mais altas dos ensaios para o mesmo parâmetro. Papazoglou et al. (2005) também se referem a alturas superiores em solos contaminados com Cd e Ni, facto que evidencia o sucesso e tolerância a metais pesados da espécie em estudo. A 950 mm (I1) e a 475 mm (I2), na experiência de Zn, os valores das alturas obtidas nos controlos foram superiores aos registados nas amostras contaminadas no decorrer do primeiro ciclo de crescimento, mas não no segundo. Globalmente, e nos fornecimentos de água I1 e I2, os resultados das alturas dos caules no segundo ano são superiores aos obtidos no primeiro. O Zn não parece afectar de forma negativa este parâmetro, e a regimes de fornecimento de água superiores parece estimular a altura, embora não de forma significativa (1º ano). As maiores alturas dos caules obtidas na experiência foram obtidas a 950 e 475 mm, no 1º e 2º anos.



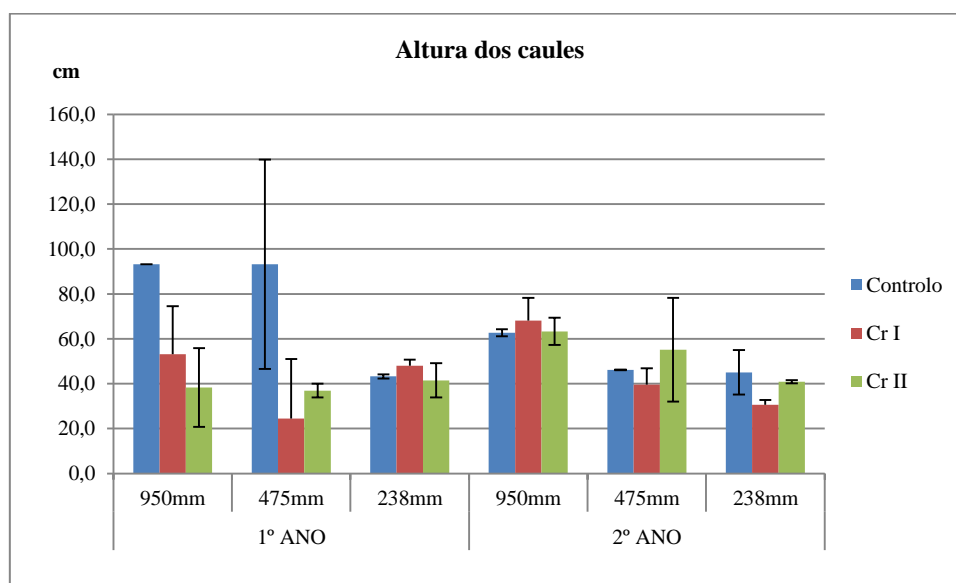
**Figura 6.3:** Altura média das plantas na experiência de Zn.

Os resultados da análise de variância (ANOVA – factor duplo com repetição), para a experiência de zinco, apresentam-se no **Quadro 6.6**. O teste apurou diferenças estatisticamente significativas nos níveis de fornecimento hídrico do 1º e 2º anos, assim como na interacção entre fornecimento hídrico e tratamentos metálicos do segundo ano. O tratamento metálico com Zn não influencia de forma significativa os resultados da altura de plantas, em nenhum dos anos. As diferentes disponibilidades hídricas influenciam de forma isolada os resultados em ambos os anos.

**Quadro 6.6** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a altura dos caules.

Altura dos caules; experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0.0444	P = 0.0019
Tratamentos metálicos	P = 0.6900	P = 0.2004
Interação	P = 0.3193	P = 0.0339

Globalmente, as amostras contaminadas com Cr produziram alturas dos caules inferiores às registadas nas amostras contaminadas com Zn. Este resultado sugere que o Zn teve um efeito mais estimulador do que o Cr (no 2º ano não se observou efeitos na altura face ao controlo com a contaminação com Cr). De um modo geral observa-se que os controlos produzem plantas mais altas que as amostras contaminadas, mas apenas no 1º ano e para I1 e I2. As plantas dos controlos do primeiro ano apresentaram alturas superiores às do segundo ano. As amostras contaminadas (Cr I e CrII) no segundo ano não apresentaram diferenças face ao controlo, para qualquer um dos regimes de irrigação.



**Figura 6.4:** Altura média das plantas na experiência de Cr.

Os resultados da análise de variância (**Quadro 6.7**) mostram que as diferentes disponibilidades hídricas influenciaram de forma estatisticamente significativa os resultados da altura das plantas em todo o tempo da experiência, os tratamentos com Cr influenciaram de forma significativa no primeiro ano, mas não no segundo. A interação entre as disponibilidades hídricas e a contaminação influenciou os resultados de forma significativa no primeiro ano, mas não no segundo.

**Quadro 6.7** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a altura das plantas na experiência de Cr.

Altura das plantas (cm); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.0049	P = 0.0135
Tratamentos metálicos	P = 0.0690	P = 0.6639
Interacção	P = 0.0096	P = 0.7068

### 6.3.1.3 Diâmetro basal dos caules

A análise dos diâmetros dos caules medidos na base da planta poderá dar mais indicações sobre a afectação dos tratamentos de Zn e Cr no seu crescimento e desenvolvimento vegetativo<sup>1</sup>. O crescimento lateral ou em diâmetro deve-se à acção dos meristemas secundários, ocorrendo sobretudo nos períodos em que a água e restantes condições ambientais são favoráveis ao crescimento. O **Quadro 6.8** apresenta os resultados obtidos para o diâmetro dos caules registado na base. A colecta de dados noutros pontos da planta não foi efectuada, sendo que para a larga maioria das plantas, na respectiva base, correspondente ao ponto de corte<sup>2</sup>, os caules eram mais vigorosos. Contudo, e de um modo geral, verificou-se que à medida que avançamos da base para o ápice da planta o diâmetro decresceu.

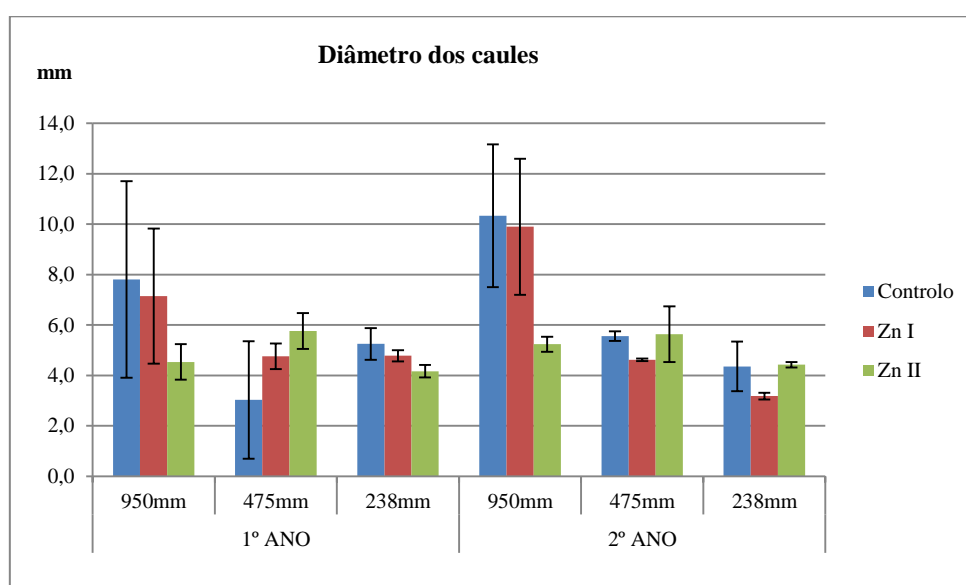
**Quadro 6.8** – Diâmetro basal dos caules (mm).

Diâmetro dos caules (mm)	1º Ano			2º Ano		
	Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
950 mm	7.8±3.9	7.1±2.6	4.5±0.7	10.3±2.8	9.8±2.7	5.2±0.3
475 mm	3.0±2.3	4.7±0.5	5.7±0.7	5.5±0.2	4.6±0.1	5.6±1.1
238 mm	5.2±0.6	4.7±0.2	4.1±0.2	4.3±1.0	3.1±0.1	4.4±0.1
	Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
950 mm	7.8±3.9	7.6±3.8	6.7±0.6	10.3±2.8	7.8±0.7	7.2±0.9
475 mm	3.0±2.3	4.0±0.7	4.8±0.2	5.5±0.2	5.6±0.4	6.0±0.6
238 mm	5.2±0.6	5.0±0.3	5.6±0.5	4.3±1.0	5.6±0.6	6.4±0.1

<sup>1</sup> Considera-se crescimento como sendo o aumento do tamanho de uma planta, quantificado pela sua biomassa ou dimensão; e desenvolvimento, como correspondendo à progressão de uma planta desde a sua germinação até à respectiva maturação.

<sup>2</sup> Neste trabalho consideramos o ponto de corte como o ponto que separa a biomassa aérea e subterrânea das plantas.

A **Figura 6.5** apresenta os resultados obtidos na experiência de Zn para o diâmetro dos caules para os dois ciclos de crescimento de *A. donax* L. Sem diferenças estatisticamente significativas (**Quadro 6.9**) os resultados obtidos no controlo e amostra ZnI no 2º ano, são superiores aos obtidos no 1º ano, a I1. Mas nem a contaminação, níveis de fornecimento de água ou respectiva interacção parecem influenciar de forma estatisticamente significativa o diâmetro dos caules (embora no 2º ano, com I1 se tenham obtido valores de diâmetro significativamente mais elevados que em I2 e I3). Com efeito, os níveis de fornecimento hídrico influenciaram de forma significativa os resultados ( $P = 0.0092$ ) no segundo ano, embora os tratamentos com Zn e a interacção entre factores não tenham produzido os mesmos efeitos. O maior diâmetro registado numa planta isolada foi no controlo do 2º ano a I1 (20 mm).



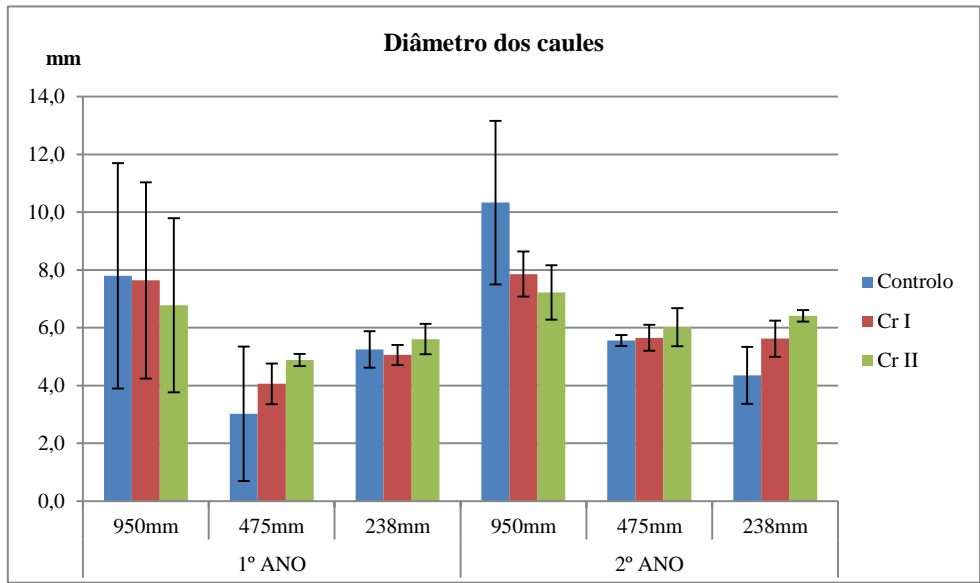
**Figura 6.5:** Diâmetro médio das plantas na experiência de Zn.

**Quadro 6.9** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o diâmetro dos caules (mm) na experiência de Zn.

Diâmetro dos caules (mm); experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0.1651	P = 0.0092
Tratamentos metálicos	P = 0.7655	P = 0.3903
Interacção	P = 0.2830	P = 0.2280

A **Figura 6.6** apresenta os resultados obtidos na experiência de Cr para o diâmetro dos caules para os dois ciclos de crescimento de *A. donax* L. também nesta experiência se verifica que é a amostra controlo a I1 que produz maiores diâmetros, não se podendo afirmar, contudo que existe um efeito fitotóxico do Cr reflectido neste parâmetro. Por exemplo, no 1º ano a I2 e no 2º

ano a I2 e I3, verifica-se que as amostras mais contaminadas (CrII) produzem diâmetros maiores que as amostras menos contaminadas (CrI) e estas que os controlos. No 2º ciclo de crescimento da cultura, verifica-se uma tendência de decréscimo no diâmetro médio dos caules, à medida que se fornece menos água, para o caso dos controlos. De facto, os resultados da análise de variância destes dados (**Quadro 6.10**) traduzem uma influência do nível de fornecimento de água quer nos valores do primeiro ano, quer nos do segundo. Os níveis de contaminação e interação não parecem influenciar os resultados.



**Figura 6.6:** Diâmetro médio das plantas na experiência de Cr.

**Quadro 6.10** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o diâmetro dos caules (mm) na experiência de Cr.

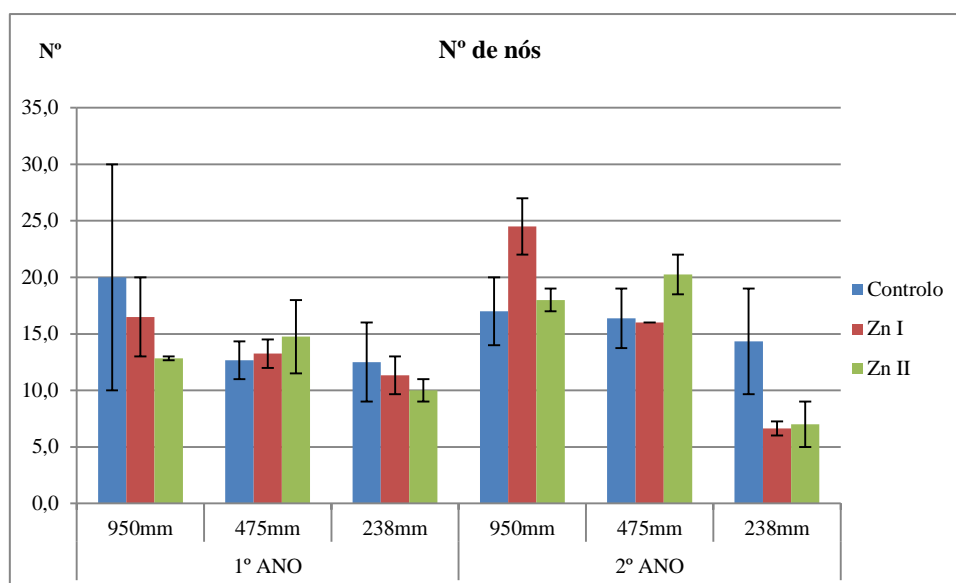
Diâmetro dos caules (mm); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.0037	P = 0.0171
Tratamentos metálicos	P = 0.8626	P = 0.8949
Interação	P = 0.6081	P = 0.3651

Santala e Ryser (2009) registaram maiores diâmetros a regimes de fornecimento de água superiores, na planta *Betula papyrifera* quando submetida a diferentes concentrações de Ni e Cu, e na interação entre concentração metálica e regimes de fornecimento de água não registaram diferenças significativas, informações que vêm ao encontro destes resultados. Também Papazoglou et al. (2005) não registaram diferenças estatisticamente significativas entre controlos e amostras contaminadas com Cd e Ni, nos diâmetros dos caules de *A. donax* L., facto que evidencia o sucesso e tolerância a metais pesados da espécie em estudo.



### 6.3.1.4 Número de nós dos caules

O nó é o local do caule onde assenta a base da folha. O registo deste parâmetro fez-se com o intuito de averiguar se eventualmente a contaminação metálica e a interacção deste com diferentes níveis de fornecimento hídricos afectariam a produção de nós. A **Figura 6.7** apresenta os resultados para o número de nós na experiência de Zn.



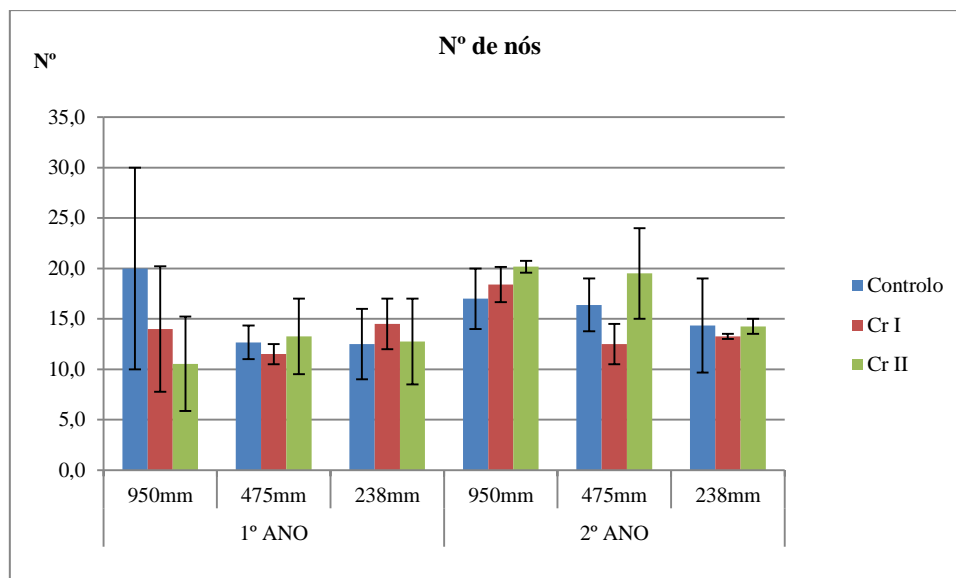
**Figura 6.7:** Nº de nós médio dos caules na experiência de Zn.

Como observado noutros parâmetros biométricos, também se observou um maior nº de nós nos caules para II no 2º ano. As amostras ZnI e ZnII (II, 2º ano) produziram mais nós que o respectivo controlo, embora sem diferenças significativas. Este parâmetro não foi afectado quer pela concentração de zinco quer pelo fornecimento hídrico no 1º ano, sendo influenciado pelos níveis de fornecimento hídricos no 2º ( $P = 0.0011$ ; ANOVA). O **Quadro 6.11** apresenta os resultados do tratamento estatístico com ANOVA para o nº de nós da experiência de Zn.

**Quadro 6.11** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de nós na experiência de Zn.

Nº nós; experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	$P = 0.7658$	$P = 0.0011$
Tratamentos metálicos	$P = 0.8339$	$P = 0.9107$
Interacção	$P = 0.8534$	$P = 0.0558$

A **Figura 6.8** apresenta os resultados para o número de nós na experiência de Cr.



**Figura 6.8:** Nº de nós médio dos caules na experiência de Cr.

No que concerne aos resultados do Cr, observa-se que nem a contaminação com Cr nem os diferentes regimes de fornecimento hídricos influenciam os resultados do nº de nós. Dentre as amostras contaminadas com Cr, o maior nº de nós foi registado na amostra CrII, II, no 2º ano, portanto, na amostra com maior disponibilidade de água, maior contaminação de Cr no solo, e já no segundo ciclo de crescimento da cultura, quando os rizomas se encontram mais adaptados às condições do vaso. O **Quadro 6.12** apresenta os resultados da análise de variância para o nº de nós da experiência de Cr.

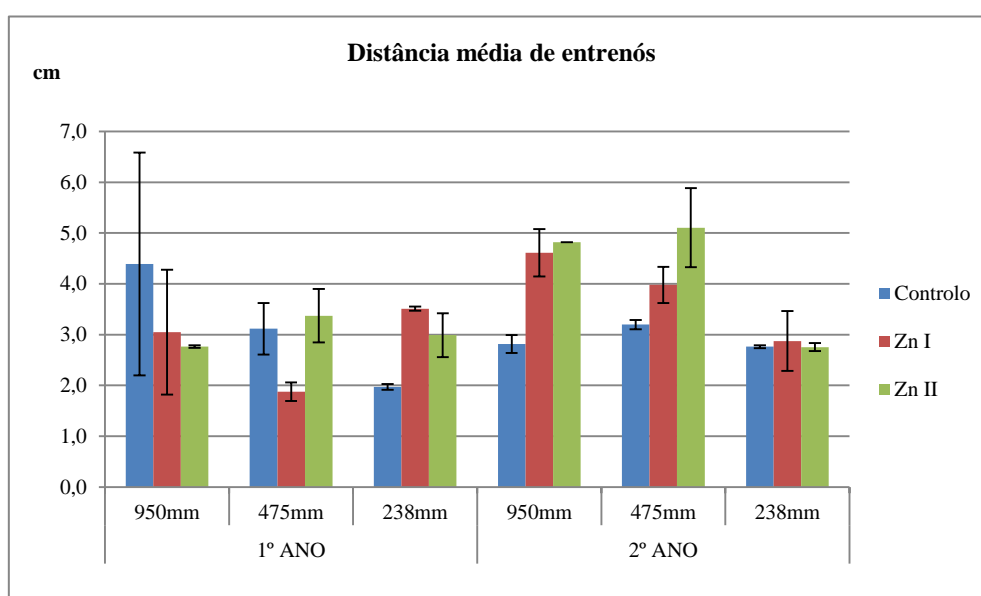
**Quadro 6.12** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de nós na experiência de Cr.

Nº nós; experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.8849	P = 0.0960
Tratamentos metálicos	P = 0.8944	P = 0.2959
Interação	P = 0.9692	P = 0.6861

Os níveis de fornecimento hídrico influenciam de forma estatisticamente significativa o nº de nós das plantas que cresceram nos vasos com Cr, mas nem os tratamentos com Cr, nem a interação de ambos os factores afecta de forma significativa os resultados do nº de nós no 2º ano. No primeiro ano, o nº de nós não é afectado por nenhum dos factores nem pela interacção de ambos. Papazoglou et al. (2005) não observaram diferenças estatisticamente significativas entre controlos e amostras contaminadas com Cd e Ni no número de nós de *A. donax* L.

### 6.3.1.5 Distância de entrenós dos caules

Vimos no ponto 6.3.1.1 que estas são as estruturas do caule onde ocorre crescimento e divisão celular. Interessa aqui, por isso, averiguar de que modo a contaminação metálica com Zn e Cr afectou o crescimento das plantas, quando submetidas também a diferentes disponibilidades hídricas. A hipótese por detrás do estudo apontado neste ponto é a seguinte: pode a concentração de zinco ou crómio afectar o crescimento da planta, mediante afectação das zonas meristemáticas situadas ao nível dos entrenós, e tal afectação provocar um aumento ou redução notório na média das distâncias? A **Figura 6.9** apresenta os resultados obtidos para este parâmetro, na experiência do Zn.



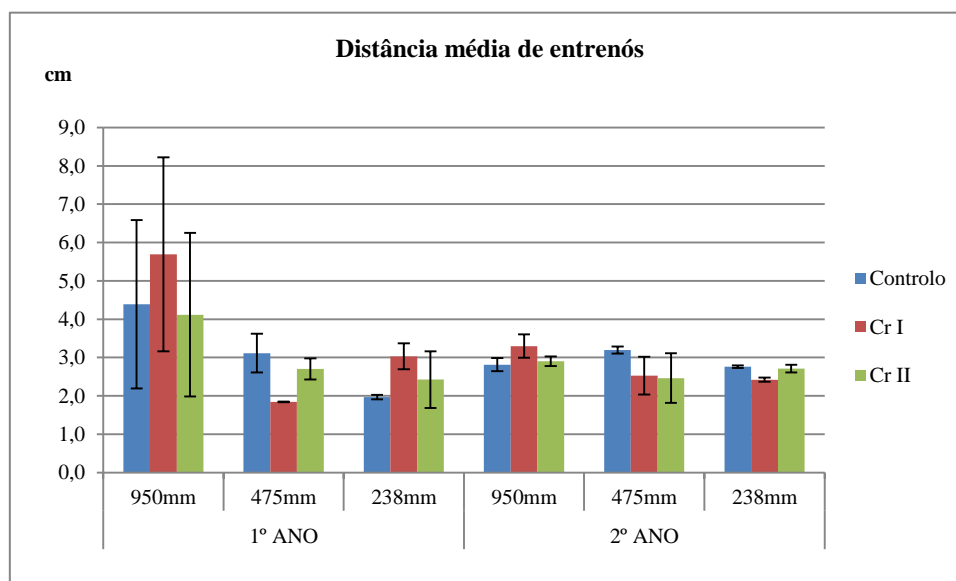
**Figura 6.9:** Distância média de entrenós na experiência de Zn.

No caso do Zn, observa-se que as amostras que produziram maior nº de nós, também possuem maiores distâncias de entrenós. No 1º ano, a contaminação metálica e as diferentes disponibilidades hídricas não produziram efeitos nas distâncias médias de entrenós. Contudo, no segundo ciclo de crescimento quer o nível de fornecimento hídrico ( $P = 0.0036$ ; ANOVA) quer o tratamento com Zn ( $P = 0.0073$ ; ANOVA) afectam de forma significativa os resultados das distâncias de entrenós de forma isolada (**Quadro 6.13**). A interacção entre ambos os factores contudo, não produz o mesmo efeito. Quando observados os resultados das amostras contaminadas do 2º ano, com distâncias de entrenós superiores às dos respectivos controlos, a todos os níveis hídricos, parece notar-se um ligeiro efeito de estimulação induzido pelo Zn. As amostras ZnII do 2º ano apresentam as maiores distâncias de entrenós dos ensaios, e também tinham originado das maiores alturas nos caules.

**Quadro 6.13** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a distância de entrenós na experiência de Zn.

Distância de entrenós (cm); experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0.9756	P = 0.0036
Tratamentos metálicos	P = 0.7022	P = 0.0073
Interacção	P = 0.5919	P = 0.0986

A **Figura 6.10** apresenta os resultados do mesmo parâmetro para a experiência do Cr.



**Figura 6.10:** Distância média de entrenós na experiência de Cr.

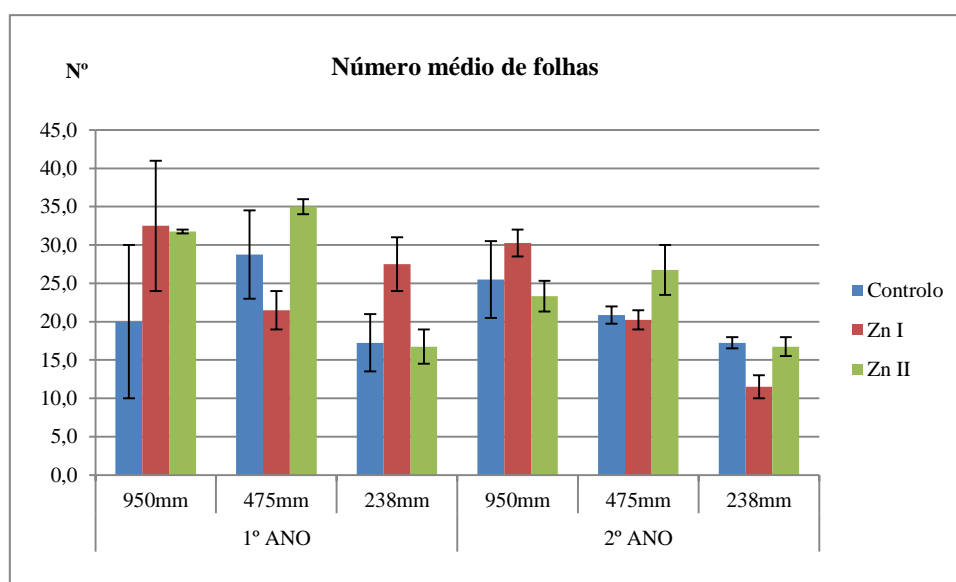
Os resultados da distância de entrenós na experiência do Cr não sugerem nenhuma tendência. Os valores de todas as amostras com irrigação II no 1º ano são ligeiramente superiores a todas as restantes amostras em ambos os ciclos de crescimento, mas de um modo geral nem a contaminação metálica nem os diferentes regimes de fornecimento de água parecem afectar de forma significativa o parâmetro (**Quadro 6.14**). Estes resultados estão em concordância com os obtidos por Papazoglou et al. (2007).

**Quadro 6.14** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a distância de entrenós na experiência de Cr.

Distância de entrenós (cm); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.1681	P = 0.1543
Tratamentos metálicos	P = 0.4402	P = 0.7056
Interacção	P = 0.3060	P = 0.2086

### 6.3.1.6 Número de folhas

Esgotadas as reservas do rizoma, o crescimento das plantas depende da interceptação da radiação solar pelas folhas e da absorção de nutrientes pelas folhas e raízes. Nas gramíneas, um meristema localizado na base da folha (meristema intercalar) vai produzindo novas células, que se alongam, produzindo folhas lanceoladas, características destas espécies. Nestas folhas, a parte mais velha fica no ápice e a parte mais jovem, na base, próxima ao meristema. Essa região da folha fica activa por longos períodos, mesmo após maturação da folha. Assim, neste ponto (mas também no ponto em que é analisado o índice de área foliar), pretende-se verificar de que forma elevadas concentrações de Zn e Cr podem interferir com essa região das folhas de *A. donax* L. A **Figura 6.11** apresenta os resultados para a experiência de Zn.



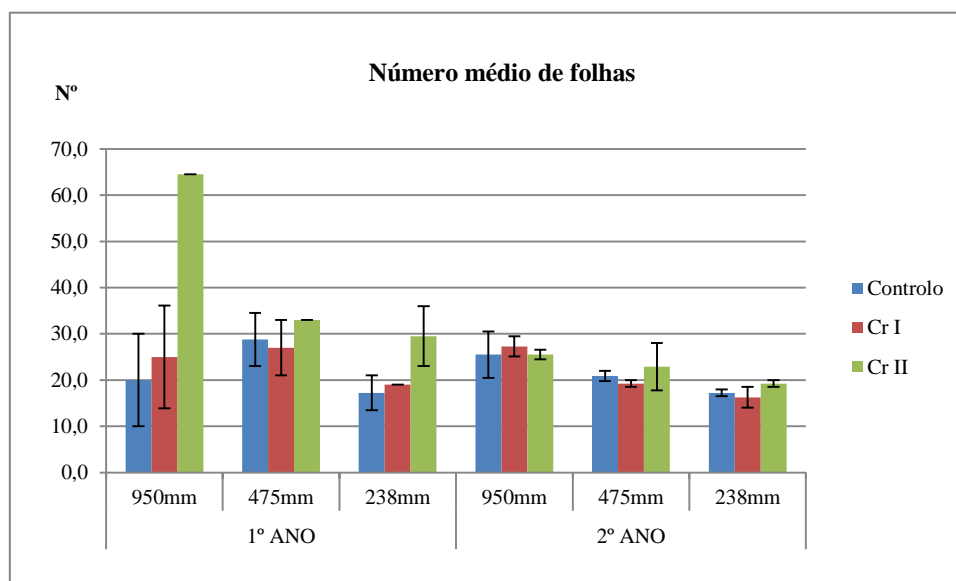
**Figura 6.11:** Número médio de folhas registadas por vaso para a experiência de Zn.

Para quase todas as amostras de ambos os ciclos de crescimento, observa-se um maior número de folhas nas amostras contaminadas que nas amostras controlo, com excepção para os resultados do nº de folhas referentes ao 2º ano para I3. Contudo, nem a contaminação metálica, nem os diferentes regimes hídricos testados parecem afectar de forma significativa estes resultados. Os níveis de contaminação com Zn e os regimes hídricos não afectaram significativamente os resultados no 1º ano (**Quadro 6.15**). No segundo ano, os regimes de fornecimento de água afectam de forma significativa os resultados ( $P = 0.0008$ ; ANOVA), mas tal não ocorre nem com a contaminação metálica nem com a interacção entre factores.

**Quadro 6.15** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de folhas na experiência de Zn.

Nº de folhas; experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0.0651	P = 0.0008
Tratamentos metálicos	P = 0.2033	P = 0.7045
Interacção	P = 0.0702	P = 0.0774

A **Figura 6.12** apresenta os resultados para a experiência de Cr.



**Figura 6.12:** Número médio de folhas registadas por vaso para a experiência de Cr.

Da análise dos resultados da experiência de Cr, salta à vista o resultado obtido para a amostra CrII, II, onde o valor do nº médio de folhas é o maior de todos os ensaios, e para ambos os anos. Assim, a maior contaminação metálica, no primeiro ano, em conjunto com a maior disponibilidade hídrica, parecem ter levado ao aumento da produção de folhas nas plantas. Tal tendência verifica-se a regimes hídricos mais baixos, mas não de forma tão acentuada, a 950 mm, no segundo ciclo de crescimento. A análise de variância destes resultados (**Quadro 6.16**) mostra que os níveis de fornecimento hídricos influenciam a produção de folhas de forma estatisticamente significativa no segundo ano. No 1º ano, este factor, assim como os tratamentos com Cr e a respectiva interacção não influenciam os resultados. Os tratamentos metálicos não influenciam os resultados do segundo ano. É notável como a interacção entre os dois factores funciona como um factor independente nos resultados obtidos para P dos regimes de fornecimento hídrico e tratamento metálicos. Veja-se, por exemplo, no decorrer do segundo ano, afectado de forma significativa pelas disponibilidades hídricas mas não pelo tratamento

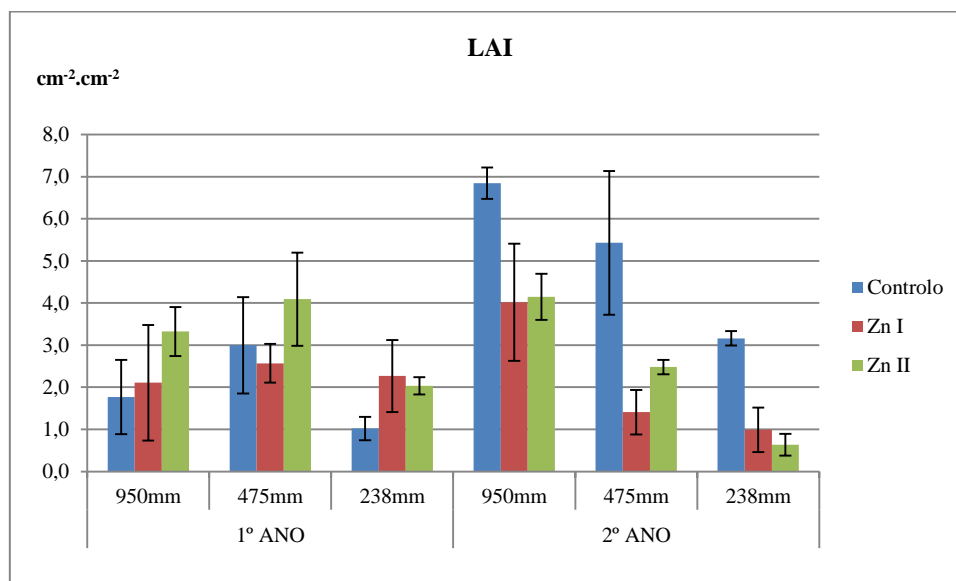
metálico, a interacção entre os factores devolveu no ANOVA um valor mais elevado (portanto menor influência) que os tratamentos com Cr de forma isolada.

**Quadro 6.16** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o nº de folhas na experiência de Cr.

Nº de folhas; experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.4581	P = 0.0050
Tratamentos metálicos	P = 0.1858	P = 0.7216
Interacção	P = 0.6062	P = 0.7397

### 6.3.1.7 Índice de área foliar

O índice de área foliar para diversas culturas situa-se entre os 4 e os 6  $\text{m}^2.\text{m}^{-2}$ , dependendo da espécie e da intensidade luminosa (Varennnes, 2003). Para o *A. donax* L., antes da senescência os valores do LAI situam-se, contudo, entre 2.8-8.7  $\text{m}^2.\text{m}^{-2}$  e na época de corte entre os 0.6-3.5  $\text{m}^2.\text{m}^{-2}$  (Cosentino et al., 2014). Todos os factores que restrinjam a formação de uma área foliar adequada, ou que causem a senescência prematura das folhas, afectam o crescimento das plantas. Níveis elevados de Zn interferem com o uso do Fe por várias proteínas, como os citocromos e a aconitase, substituindo ainda o Mn no fotossistema II, originando sintomas de deficiência de Fe e de Mn (Davies e Jones, 1992; Varennnes, 2003; Kabata-Pendias, 2011). A **Figura 6.13** apresenta os resultados obtidos para o índice de área foliar (LAI) nos diversos tratamentos testados na experiência de Zn.



**Figura 6.13:** LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) registados na experiência de Zn.

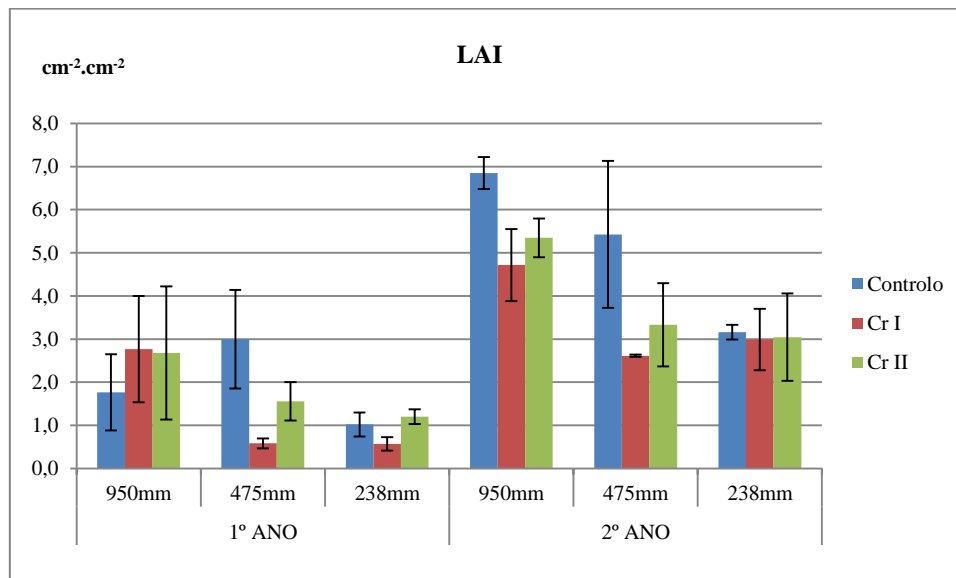
Verifica-se que as folhas obtidas com I1 no 2º ano, sobretudo as do controlo, apresentam os maiores LAI médios dos ensaios ( $6.8 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ), na gama apresentada por Cosentino et al. (2014) para folhas antes da senescência. Os valores do LAI obtidos no 1º ano situam-se na gama apresentada por Cosentino et al. (2014) para a época de corte, estando ainda em concordância com os LAI referidos por Watts e Moore (2011) para populações ripícolas de *Arundo donax* L. com carácter invasivo no sul do Texas ( $3.3\text{-}5.5 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ). Os valores do LAI dos controlos, mas também das amostras contaminadas com Zn no primeiro ano, na experiência de Zn, situam-se na gama apresentada por Mitchell et al. (1998) para os LAI máximos na *Thinopyrum intermedium* ( $4.7 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ), *Bromus inermis* Leyss ( $5.1 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ), *Panicum virgatum* L. ( $4.9 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) e *Andropogon gerardii* Vitman ( $5.8 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ), sob condições de solos sem nenhum tipo de contaminação, ou na de Adejumo et al. (2011) ( $5.19 \text{ cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) para o milho crescido em solos contaminados com chumbo, mas contendo também Cu, Zn, Cr e Cd. Como se refere mais adiante no ponto 6.3.2.3, e evidenciado pelos resultados da MM, as folhas do segundo ciclo de crescimento, cortadas em novembro, ainda estavam verdes, e estes resultados reflectem também esse facto. Efectivamente as épocas de corte das plantas no 1º e 2º anos são distintas, e esse facto pode ser preponderante na leitura destes resultados. As plantas do controlo a I1, 2º ano não tinham produzido o maior nº de folhas, mas produziram as folhas com maior área, e portanto com maior capacidade fotossintética. Foi também na mesma amostra que tínhamos registado o maior diâmetro nos caules, portanto, maior crescimento lateral das plantas. De um modo geral, no decorrer do primeiro ciclo de crescimento, e de forma independente do regime de fornecimento hídrico, as amostras contaminadas com Zn apresentaram maiores LAI que os respectivos controlos. No 2º ano, regista-se uma tendência de decréscimo no valor do LAI das amostras com irrigação I1 para I3, quer nos controlos, quer nas amostras ZnI e ZnII. O valor do LAI é superior nos controlos do 2º ano, para todos os regimes de fornecimento de água. Os valores registados no LAI para a amostra ZnII a I2 no 1º ano e a I1 no segundo ano, são os maiores registados para as amostras contaminadas. O **Quadro 6.17** apresenta os resultados da ANOVA destes da experiência de Zn.

**Quadro 6.17** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) na experiência de Zn.

LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ); experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0.1430	P = 0.0021
Tratamentos metálicos	P = 0.2202	P = 0.0025
Interacção	P = 0.7845	P = 0.8280



Os regimes de fornecimento hídrico e os tratamentos com Zn não influenciam os índices de área foliar das plantas durante o 1º ano, mas influenciam no 2º ano. A interacção entre ambos os factores não influencia os resultados do LAI em toda a experiência. A **Figura 6.14** apresenta os resultados obtidos para o índice de área foliar (LAI) na experiência de Cr.



**Figura 6.14:** LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) registados na experiência de Cr.

Os resultados do LAI obtidos no 2º ano na experiência de Cr são claramente superiores aos obtidos no 1º ano, para todas as amostras, independentemente da concentração de Cr testada e nível de irrigação testado, embora seja notória, no 2º ano, uma tendência de decréscimo, também para todas as amostras, do regime de fornecimento de água superior para o inferior. De facto, os regimes de fornecimento hídrico influenciaram de forma significativa os resultados do LAI na experiência de Cr, quer no 1º quer no 2º anos (**Quadro 6.18**). A maior disponibilidade hídrica parece influenciar positivamente o índice de área foliar, embora os resultados do 1º ano traduzam essa informação, somente para as amostras contaminadas, e de uma forma menos evidente que no 2º ciclo de crescimento das plantas. Os tratamentos com Cr não influenciam de forma significativa estes resultados de forma isolada. A interacção entre os dois factores não influencia de forma significativa os resultados do LAI na experiência do Cr.

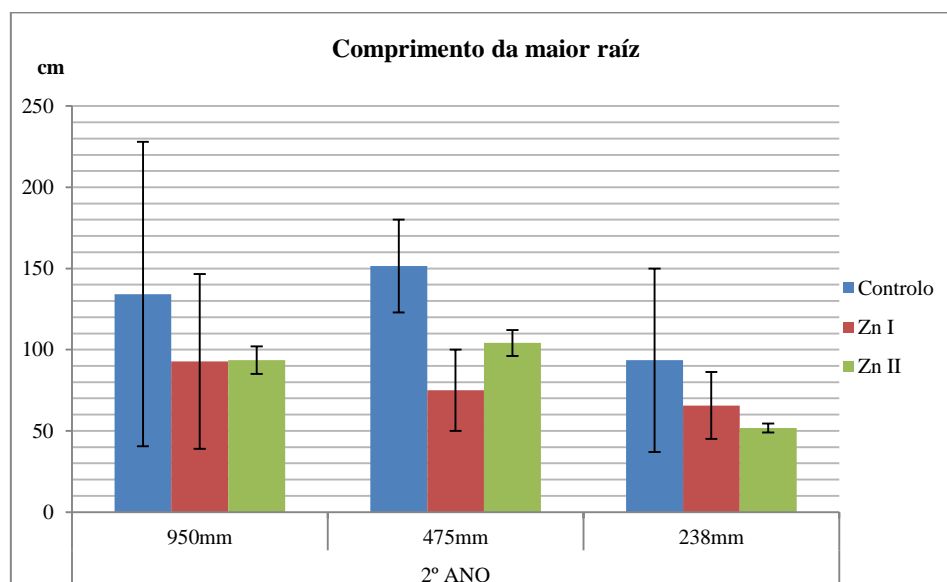
**Quadro 6.18** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ) na experiência de Cr.

LAI ( $\text{cm}^2.\text{cm}^{-2}$ ); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.0562	P = 0.0042
Tratamentos metálicos	P = 0.4811	P = 0.1083
Interacção	P = 0.1946	P = 0.5858

Os valores do LAI nas experiências de Zn e Cr são superiores no segundo ano, altura em que as plantas estavam mais estabelecidas no solo. Colmatadas as necessidades nutritivas de todas as componentes das plantas, e com maiores reservas acumuladas no rizoma, as plantas puderam em geral investir mais nas componentes aéreas, inclusive nas folhas. Maiores presenças de N no solo, após segunda fertilização no início do segundo ciclo de crescimento, poderão também ter conduzido ao aumento da produção de folhas maiores assim como de maiores actividades fotossintéticas induzindo o aumento das produtividades destas componentes (Davies e Jones, 1992; Varennes, 2003). Todos os valores obtidos em ambas as experiências se enquadram na gama de LAI apontada por Cosentino et al. (2014).

### 6.3.1.8 Comprimento das maiores raízes

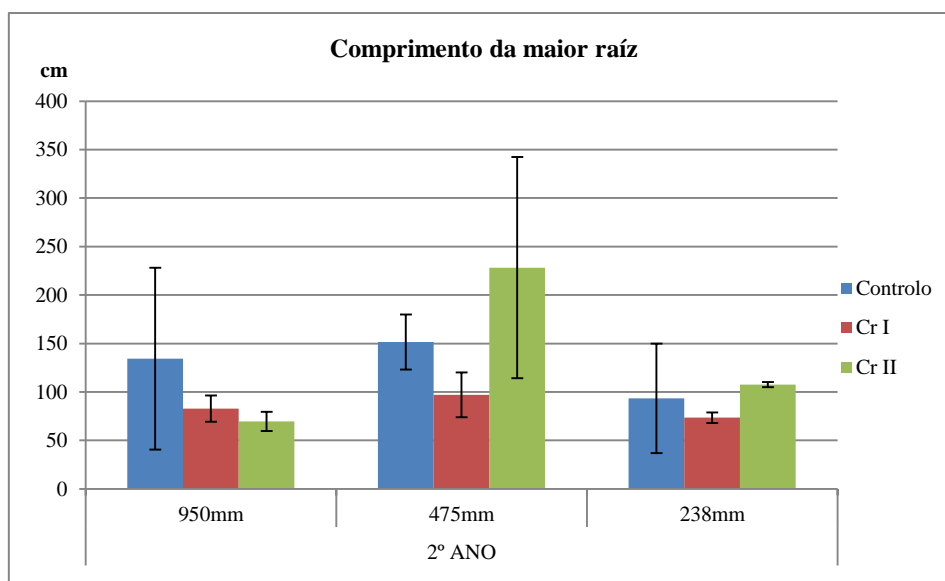
Neste ponto apresenta-se o único parâmetro biométrico analisado nas componentes subterrâneas: o comprimento da maior raiz. Face ao elevado número de raízes, mas também à sua disposição no rizoma, mas também à elevada irregularidade do rizoma, optamos por analisar as componentes subterrâneas ao nível dos seus crescimentos em massa, analisados nos pontos 6.3.2.5 e 6.3.2.6, e aqui o comprimento da maior raiz de cada rizoma. A **Figura 6.15** ilustra os resultados obtidos neste parâmetro para a experiência de Zn. O **Quadro 6.19** apresenta os resultados da ANOVA para as experiências de Zn e Cr.



**Figura 6.15:** Comprimento da maior raiz (cm) registados na experiência de Zn.

Verifica-se que os controlos apresentam sempre maiores valores médios no comprimento da maior raiz e que este parâmetro é maior a 475 mm (151.5 cm). Nenhum dos factores testados influencia os resultados de forma estatisticamente significativa de forma isolada ou em interacção. Na experiência do crómio (**Figura 6.16**) verifica-se um comportamento similar,

onde nenhum dos factores testados afecta de forma estatisticamente significativa os resultados do comprimento da maior raiz. Nesta experiência, contudo, os maiores valores médios dos comprimentos das maiores raízes foram registadas ao nível da amostra CrII a I2.



**Quadro 6.16** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o comprimento da maior raiz (cm) na experiência de Zn.

Comprimento da maior raiz (cm); experiências de Zn e Cr	Experiência de Zn; ANOVA: factor duplo com repetição	Experiência de Cr; ANOVA: factor duplo com repetição
Fornecimento de água	P = 0.4857	P = 0.8009
Tratamentos metálicos	P = 0.3627	P = 0.6813
Interação	P = 0.9799	P = 0.9659

Ostonen et al. (2007) referem-se a reduções estatisticamente significativas no comprimento das raízes de diversas espécies arbóreas em resposta à presença de alumínio nos solos. Tal não se verificou na nossa experiência para os casos do Zn e do Cr. Este facto apresenta elevada importância se tivermos em consideração que o desenvolvimento radicular, e em detalhe a profundidade que as raízes podem atingir, pode incorporar mais C e água nos solos, modificando os respectivos fluxos ao nível dos ecossistemas (Ostonen et al., 2007; Monti e Zatta, 2009), mas também pode promover um maior arejamento do solo, maior incorporação de matéria orgânica e maior sustentação do solo, importante em solos que se encontrem contaminados e por essa via em elevado estado de degradação.

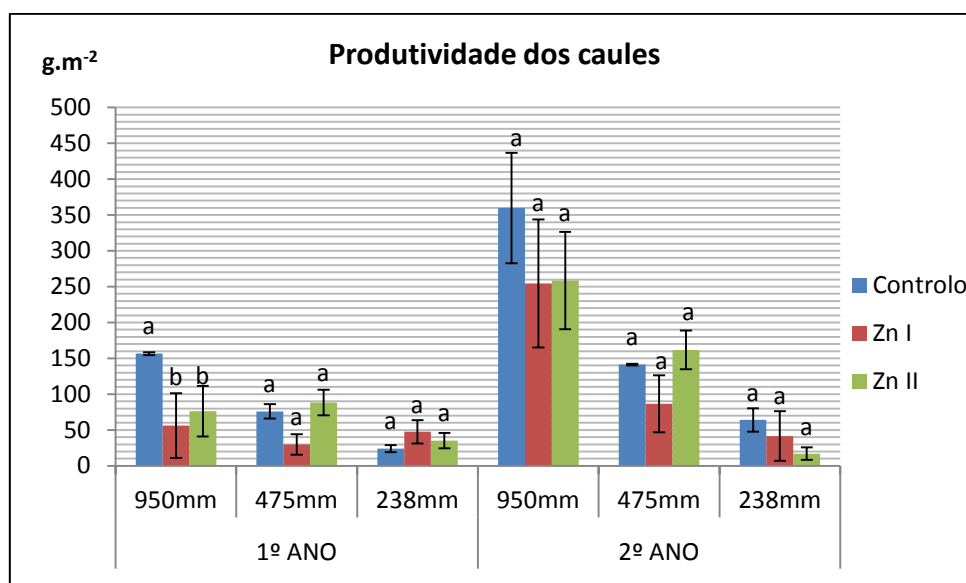
### 6.3.2 Análise das produtividades

Analizados os parâmetros de crescimento, interessa agora avaliar a resposta das plantas em termos de aumentos em massa. A produtividade foi avaliada de forma separada, nomeadamente para as fracções aéreas: caules e folhas; e fracções subterrâneas: rizoma e raízes. Será ainda

apresentada a massa da MM e da biomassa de outras espécies que cresceram no vaso (*biomassa não-Arundo*, BNA).

### 6.3.2.1 Produtividade dos caules

Os resultados obtidos nas produtividades dos caules ao longo dos dois ciclos de crescimento de *A. donax* L. na experiência de Zn estão representados na **Figura 6.17**. As produtividades foram globalmente superiores no segundo ciclo de crescimento, e superiores a maiores regimes de fornecimento de água. O regime de fornecimento hídrico de 950 mm no segundo ano parece ser determinante na obtenção de maior biomassa dos caules das plantas, mas também de maiores LAI, nº de nós, distâncias de entrenós, diâmetro dos caules e altura dos caules, no que concerne à experiência de Zn. De facto a ANOVA para esse conjunto de resultados (**Quadro 6.20**) aponta nesse sentido ( $P = 0.0005$ ). No que concerne a este parâmetro, as plantas mais produtivas obtiveram-se na amostra controlo, no 2º ano, com I1 ( $359 \text{ g.m}^{-2}$ ). As amostras contaminadas apresentaram produtividades inferiores ao respectivo controlo, mas claramente superiores aos controlos e restantes amostras contaminadas quer das irrigações I2 e I3 no segundo ciclo de crescimento, quer de todos os tipos de regimes de fornecimento de água e tratamentos testados do 1º ano.



**Figura 6.17:** Produtividade dos caules ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registados na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

A obtenção de maiores produtividades no segundo ano deve-se provavelmente a uma maior adaptabilidade do rizoma às condições do vaso, e está em concordância com resultados obtidos noutras experiências e em diferentes circunstâncias (El Bassam, 2010; Papazoglou et al., 2007).

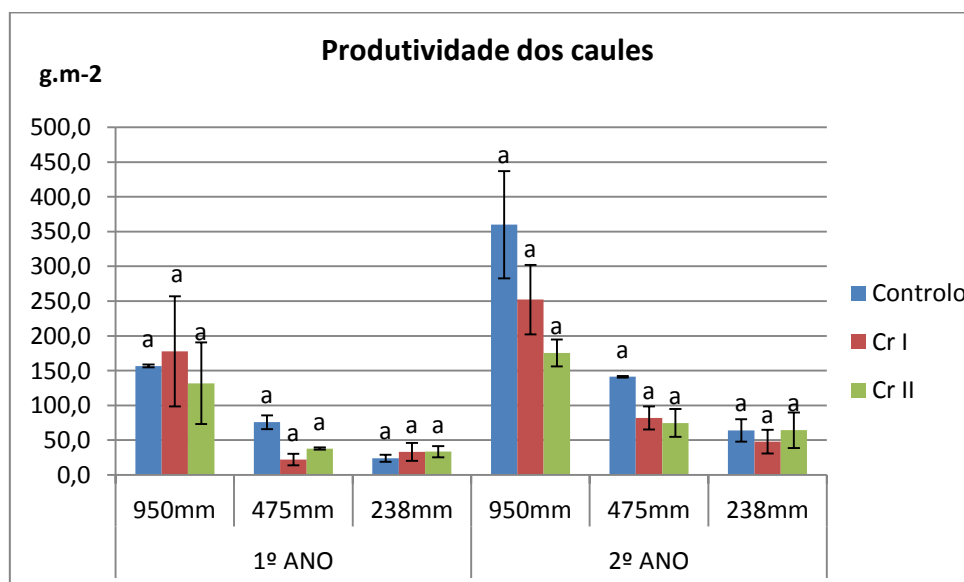
A adição de menores volumes hídricos traduz-se, sobretudo no segundo ano, em menores produtividades, para todas as amostras. Os fornecimentos hídricos, a par da influência exercida nos resultados das produtividades dos caules já descrita para o segundo ano, também influenciaram de forma estatisticamente significativa os resultados no 1º ano, diferindo estatisticamente entre si. Tal ocorre também no segundo ano.

**Quadro 6.20** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades dos caules ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Zn.

Produtividades dos caules ( $\text{g.m}^{-2}$ ); experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0.0119	P = 0,0005
Tratamentos metálicos	P = 0.0211	P = 0.3518
Interação	P = 0.0062	P = 0.7086

Os tratamentos com Zn afectaram de forma significativa os resultados do primeiro ano, assim como a interacção entre ambos os factores. Tal não se verificou no 2º ano, onde nem os tratamentos metálicos nem a interacção entre estes e os regimes de fornecimento hídrico provocaram diferenças significativas entre as produtividades dos caules.

A **Figura 6.18** apresenta os resultados obtidos na experiência de Cr. Na experiência de Cr obtivemos resultados muito semelhantes aos descritos para a experiência de Zn. Também aqui foram registadas maiores produtividades nos controlos.



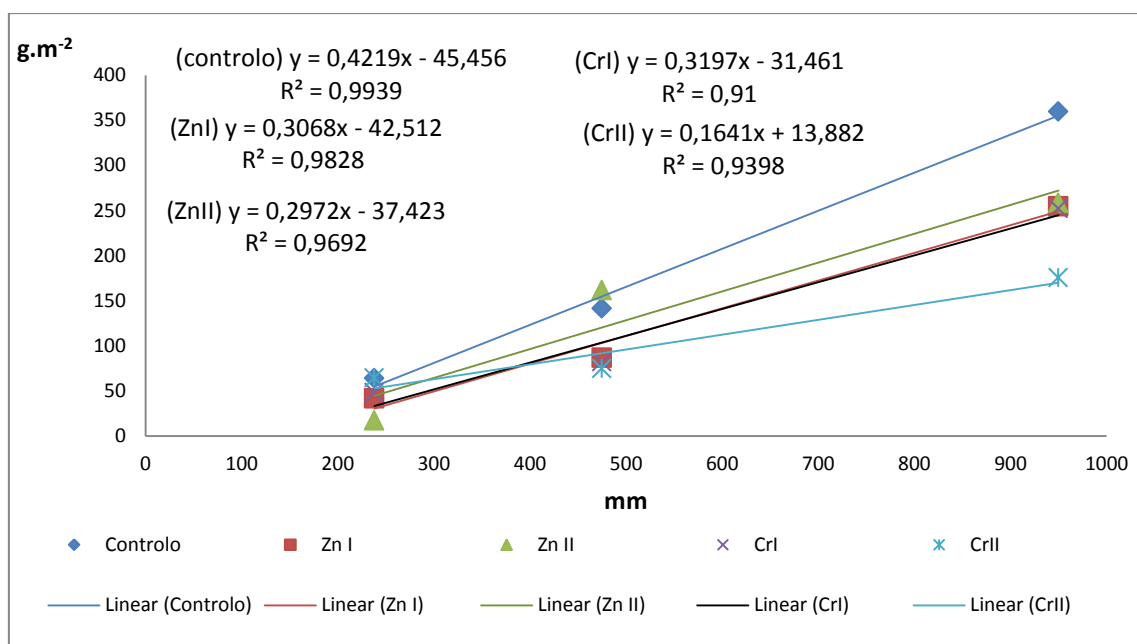
**Figura 6.18:** Produtividade dos caules ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registados na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Nas amostras contaminadas com crómio, registaram-se maiores valores no segundo ciclo de crescimento da planta e para os fornecimentos hídricos superiores. Nos vasos que foram adicionados menores volumes hídricos, registamos menores produtividades. Quando reduzimos o fornecimento de água para metade e para um quarto (de I1 para I2 e I3) no segundo ano, obtivemos uma produtividade 60.7% inferior em I2 e 82.2% em I3, nos controlos. Quando feita a mesma análise para a amostra ZnI, percebe-se que o efeito do Cr aumenta a redução das produtividades médias, aquando da redução do volume de fornecimento hídrico, em 70.35% de I1 para I2, e em 74.5% de I1 para I3. Mesmo assim, os resultados obtidos na amostra ZnI no 2º ano são 1.42 vezes superiores aos obtidos no 1º ano. Também aqui se percebe o efeito da adaptação do rizoma ao ambiente do vaso, como um factor importante para a obtenção de melhores resultados nas produtividades. Contudo, todas as amostras parecem ter sido influenciadas de forma significativa quer pelos regimes hídricos no primeiro ciclo de crescimento (**Quadro 6.21**) e pelos regimes de fornecimento hídrico no 2º. A interacção entre ambos influencia de forma significativa só os resultados do primeiro ano. No que concerne aos regimes de fornecimento hídrico do segundo ano, verificam-se diferenças estatisticamente significativas entre o regime de fornecimento hídrico I1 com I2 e I3 (I2 e I3 não diferem entre si).

**Quadro 6.21** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades dos caules ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) na experiência de Cr.

Produtividades dos caules ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 7.0E-5	P = 3.0E-5
Tratamentos metálicos	P = 0.0659	P = 0.0501
Interacção	P = 0.0421	P = 0.1950

A **Figura 6.19** apresenta as correlações obtidas entre as produtividades obtidas nos caules e os diferentes regimes de fornecimento hídrico, nas experiências de Zn e de Cr. As amostras ZnII e controlo parecem produzir produtividades fortemente correlacionadas com os diferentes regimes de fornecimento hídrico, mais do que as restantes amostras, embora as restantes também apresentem elevados valores de  $R^2$ . Ou seja, há um aumento de produtividade de caules com o aumento da quantidade adicionada de água, o qual é menos significativo com o aumento da contaminação: verifica-se um decréscimo dos declives com o aumento da contaminação. A **Figura 6.19** confirma que é no controlo que se verificam as maiores produções de caules e que em CrII se verificam as produções mais baixas. Entre ZnI, ZnII e CrI não há grandes diferenças.



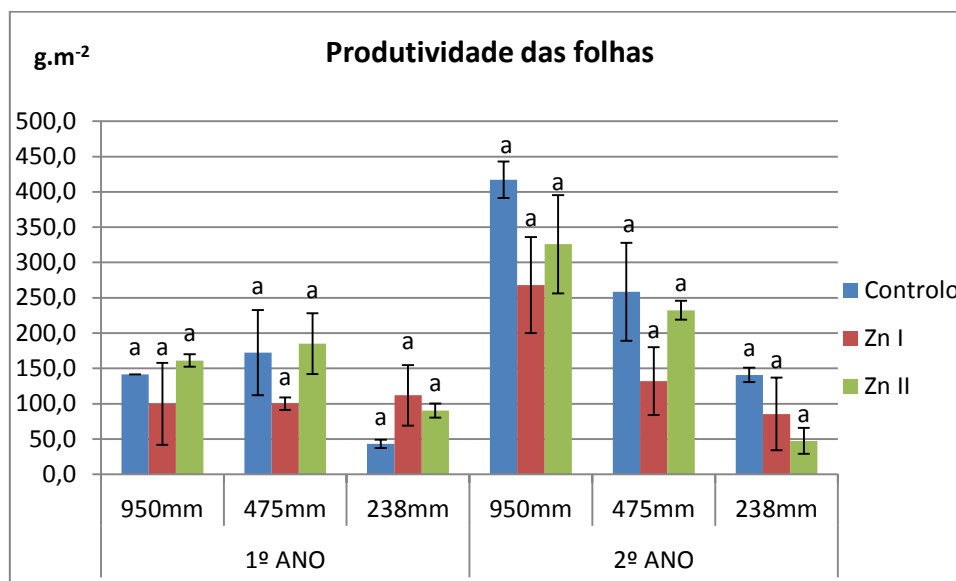
**Figura 6.19:** Correlação entre as produtividades dos caules (2º ano) com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr.

No que concerne aos valores obtidos nas produtividades dos caules, estes estão muito abaixo dos obtidos por Papazoglou (2007) em solos contaminados com Cd e Ni. Por exemplo os nossos valores do controlo no segundo ano (22.16 g) estão abaixo dos valores obtidos por Papazoglou (2007) (34.1 g) no tratamento com maior contaminação de Ni e Cd (100 mg.dm<sup>-3</sup> Ni e Cd), no primeiro ano (menos produtivo). Acreditamos que o facto de as plantas não terem recebido as condições plenas de luz no local onde decorreram os ensaios pode ter tido influência nos resultados. As produtividades obtidas ao nível dos caules e restantes estruturas das plantas estão aquém de uma eventual situação de campo com condições similares às dos nossos testes.

### 6.3.2.2 Produtividade das folhas

Os resultados obtidos nas produtividades das folhas ao longo dos dois ciclos de crescimento de *A. donax* L., estão representados na **Figura 6.20** para a experiência de Zn. Tal como os resultados obtidos para os caules, também as produtividades das folhas no segundo ano foram superiores às registadas no 1º ano, e de um modo geral, para menores fornecimentos hídricos obtiveram-se menores produtividades, quer para o controlo, quer para as amostras contaminadas. As amostras com maior contaminação (ZnII) registaram em todo o ensaio, e para ambos os ciclos de crescimento da planta, valores de produtividade superiores aos obtidos nas amostras ZnI, com excepção dos resultados obtidos a I3 em ambos os anos. Os valores obtidos nas produtividades das folhas são superiores aos registados para os caules. O controlo a I1 do segundo ano produziu (tal como aconteceu nos caules) o maior valor de produtividade foliar

dos ensaios de Zn ( $417 \text{ g.m}^{-2}$ ), um valor superior ao obtido na média das produtividades dos caules ( $359 \text{ g.m}^{-2}$ ). Este valor é ainda 2.95 vezes superior ao obtido em igual amostra no 1º ano. Não é significativo o efeito dos diferentes regimes de fornecimento de água nem da contaminação e concentração testadas, no primeiro ano, mas é notória no segundo (**Quadro 6.22**). De facto, no 2º ano, quando se reduz o volume fornecido de água em 50% e em 75%, obtêm-se produtividades 38% e 66.2% inferiores para o controlo, 50.8% e 68.1% inferiores para ZnI, e, 28.7% e 85.5% inferiores para ZnII, quando comparadas com as respectivas amostras a II. O efeito da redução do fornecimento de água traduz-se na redução dos valores das produtividades independentemente da concentração de Zn, no 2º ano. Nenhum dos factores, de forma isolada ou em interacção contribui de forma significativa para as diferenças obtidas nos resultados no 1º ano. E no segundo ano, apesar de não se verificar efeito significativo nos resultados da interacção entre factores, cada factor influencia de forma isolada. Os regimes de fornecimento hídrico diferem todos entre si de forma estatisticamente significativa no segundo ano. Quando comparados, por exemplo, os resultados obtidos no segundo ano para as amostras ZnI e ZnII com todos os resultados do primeiro ano, inclusive os controlos, e com os controlos obtidos no segundo ano a I2 e I3, percebe-se que naquelas condições dos vasos, poderão obter-se produtividades interessantes em solos contaminados com 450 e 900  $\text{mg.kg}^{-1}$  Zn.



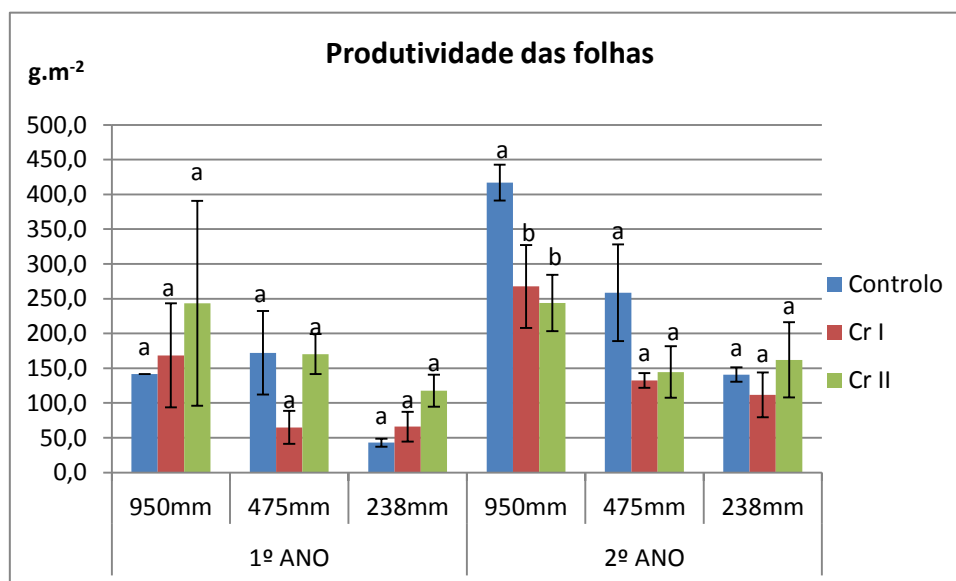
**Figura 6.20:** Produtividade das folhas ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registados na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).



**Quadro 6.22** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades das folhas ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) na experiência de Zn.

Produtividades das folhas ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ); experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0,1123	P = 0,0005
Tratamentos metálicos	P = 0,4153	P = 0,0544
Interação	P = 0,5300	P = 0,6429

A **Figura 6.21** ilustra os resultados obtidos para a experiência de Cr.



**Figura 6.21:** Produtividade das folhas ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) registados na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

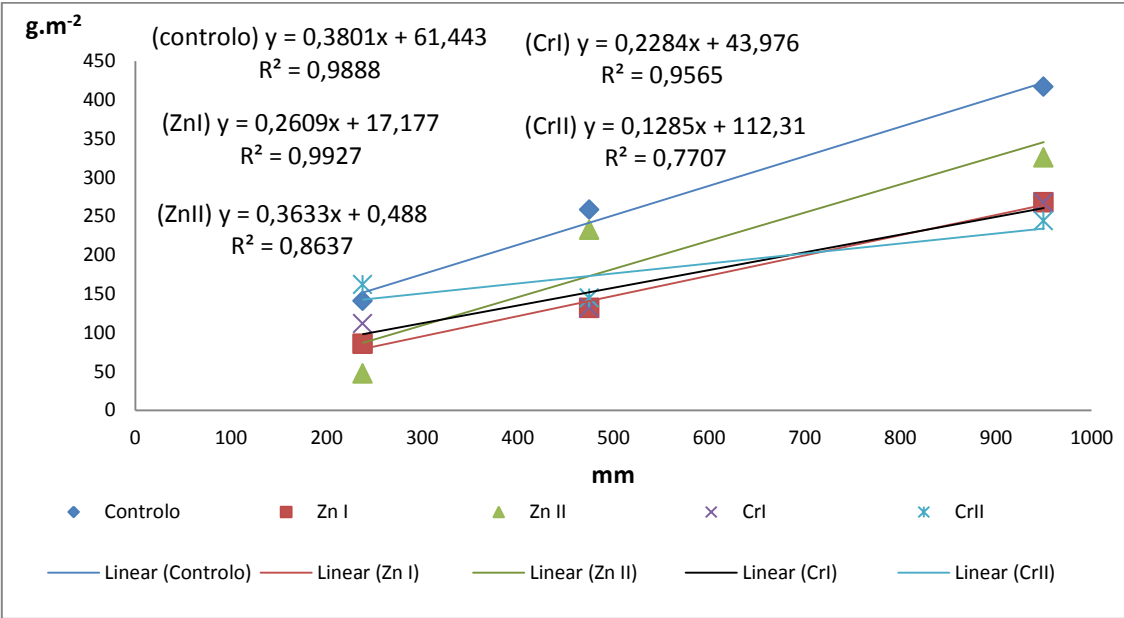
Tinhamos visto no ponto 6.3.1.6 que o maior nº de folhas registado na experiência tinha ocorrido na amostra CrII, no 1º ano, a I1. O maior nº de folhas da amostra não se traduz contudo no maior valor de produtividade das folhas médio, nem do LAI. A maior produtividade das folhas obtida nestes ensaios registou-se, de novo, na amostra controlo do 2º ano, a I1, onde já tinha sido registada também a maior produtividade dos caules. Verifica-se também nesta experiência que nos vasos em que é fornecida menos água se obtêm produtividades inferiores, de forma estatisticamente significativa no segundo ano (**Quadro 6.23**). No primeiro ano, os maiores valores de produtividade obtiveram-se na amostra CrII a I1. A I1 e I3 obtiveram-se produtividades superiores em todas as amostras no segundo ano. A I2 tal afirmação é também válida, mas somente para as amostras controlo e CrI. A amostra CrII a 475 mm apresenta resultados muito idênticos em ambos os ciclos de crescimento. Os resultados da ANOVA apontam para o facto de que ambos os factores estudados, de forma isolada ou em interacção

não influenciam de forma significativa os resultados no 1º ano, mas ambos influenciam de forma isolada no 2º. O regime de fornecimento hídrico I1 difere de forma estatisticamente significativa de I2 e I3 no segundo ano. A interacção entre factores não influencia de forma significativa os resultados da experiência de Cr no segundo ano.

**Quadro 6.23** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades das folhas ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ) na experiência de Cr.

Produtividades das folhas ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}$ ); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0,3342	P = 0,0004
Tratamentos metálicos	P = 0,2820	P = 0,0401
Interacção	P = 0,9334	P = 0,3226

A **Figura 6.22** apresenta as correlações obtidas entre as produtividades obtidas nas folhas e os diferentes regimes de fornecimento hídrico, nas experiências de Zn e de Cr.



**Figura 6.22:** Correlação entre as produtividades das folhas (2º ano) com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr.

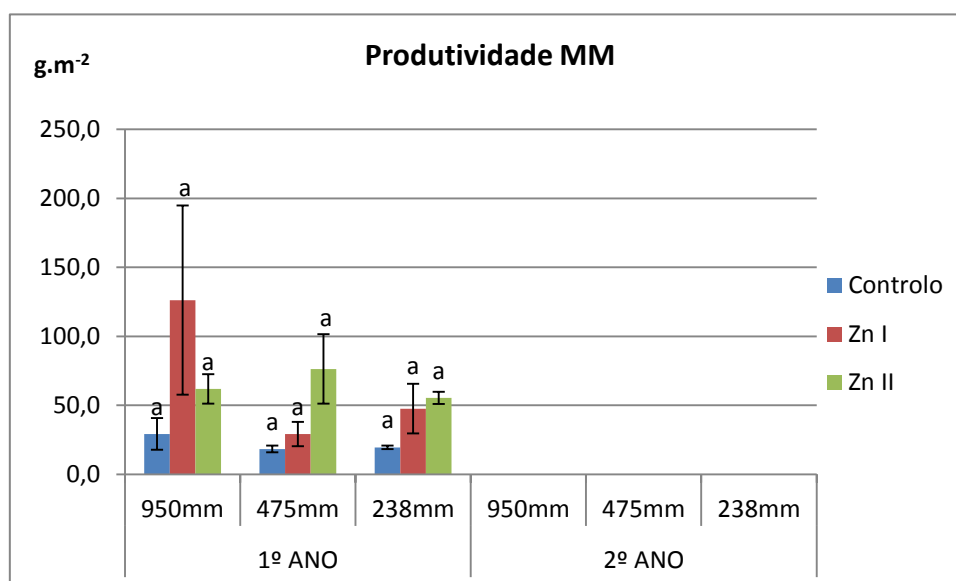
Os valores de  $R^2$  traduzem uma maior correlação entre produtividades e regimes de fornecimento hídrico na experiência de Zn e controlo que na experiência de Cr. A **Figura 6.22** mostra um aumento de produtividade de folhas com o aumento da quantidade adicionada de água, o qual é menos significativo com o aumento da contaminação, sobretudo com a contaminação em Cr: verifica-se um decréscimo dos declives com o aumento da contaminação. A **Figura 6.22** confirma que é no controlo que se verificam as maiores produções de folhas. Entre contaminações não se verificam diferenças notórias.

No que concerne aos valores obtidos nas produtividades das folhas, estes estão muito abaixo dos obtidos por Papazoglou (2007) em solos contaminados com Cd e Ni. Por exemplo os nossos valores do controlo no segundo ano (25.69 g) estão muito abaixo dos valores obtidos por Papazoglou (2007) (62.3 g) no tratamento com maior contaminação de Ni e Cd (100 mg.dm<sup>-3</sup> Ni e Cd), no primeiro ano (menos produtivo), e dos valores apontados por Papazoglou et al. (2005) para todos os tratamentos com os mesmos metais.

### 6.3.2.3 Massa da manta morta

A designação de *massa da manta morta* (MM), no contexto deste trabalho, refere-se à massa de folhas mortas expressa em g.m<sup>-2</sup> que normalmente se encontrava depositada à superfície do solo nos vasos, na altura do corte das componentes aéreas. De facto, literalmente não se poderia adoptar a terminologia *produtividade da MM* por não poder existir uma produtividade de uma coisa morta. A análise desta biomassa, não só das suas massas expressas por metro quadrado, mas sobretudo da sua qualidade, poderá dar-nos importantes indicações sobre a quantidade de metais que via senescência ou efeito fitotóxico dessas fracções das plantas regressa ao solo, mas também o montante de biomassa de folhas perdida, expresso em matéria seca, provocado pelos dois tipos de tensão testados. Note-se ainda que os controlos apresentam também valores para a MM. Portanto, pode depreender-se que é normal no *A. donax* L., assim como noutras espécies vegetais, a ocorrência de senescência de folhas, especialmente quando o corte das plantas ocorre em épocas mais tardias, como ocorreu no primeiro ciclo de crescimento, em que o corte das plantas foi efectuado em janeiro. Tal facto é independente dos tratamentos metálicos aqui testados, mas condicionou estes resultados. A **Figura 6.23** ilustra de forma evidente esse facto na experiência de Zn, onde se pode observar que praticamente só se registou MM no primeiro ciclo de crescimento. No segundo ano, somente o controlo a II apresenta resultados para este parâmetro. Esta era já a amostra mais produtiva de folhas e caules, e o valor obtido aqui para a MM é muito provavelmente o valor correspondente à biomassa de folhas que entrou em senescência durante o segundo ano, e que a ser adicionada à produtividade de folhas tornaria ainda superior o valor obtido naquele parâmetro para esta amostra. É nas amostras contaminadas que se verifica uma maior massa por metro quadrado deste parâmetro. A contaminação metálica parece ter um efeito na senescência das folhas, contudo mais pertinente a II. O efeito traduzido pelos tratamentos na massa de MM por metro quadrado não é estatisticamente significativo no 1º ano da experiência de Zn (**Quadro 6.24**). Seria espectável obter maior senescência a maiores concentrações de zinco e perante menores fornecimentos de água, mas registamos precisamente o contrário a II. Os valores são contudo mais elevados na amostra ZnII a 475 mm e a 238 mm que na amostra ZnI. Nenhum dos factores em análise afecta de forma significativa os resultados

deste parâmetro de forma isolada ou em interacção em ambos os ciclos de crescimento de *A. donax* L.



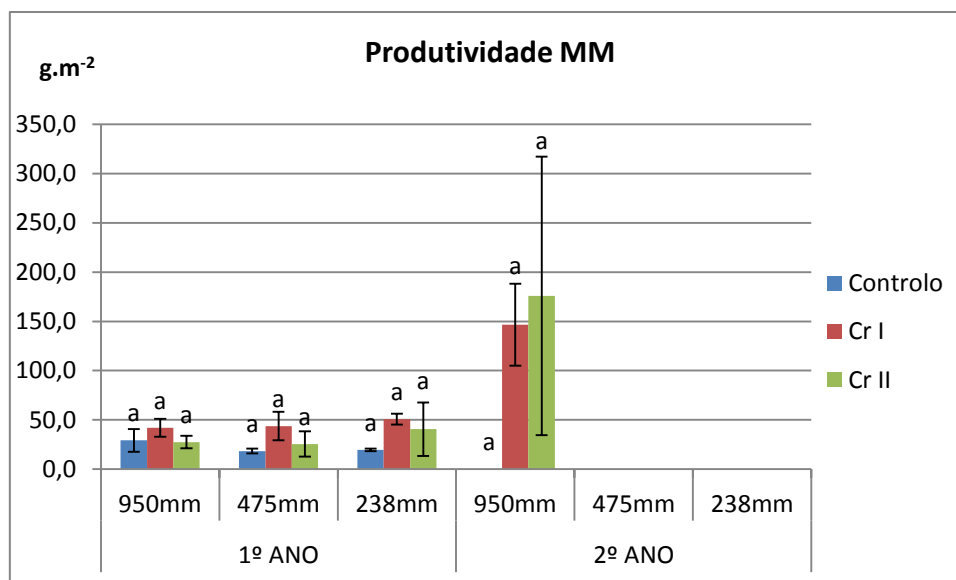
**Figura 6.23:** Manta Morta ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

**Quadro 6.24** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a MM ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Zn.

MM ( $\text{g.m}^{-2}$ ); experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	$P = 0,3607$	$P = 0,4053$
Tratamentos metálicos	$P = 0,0793$	$P = 0,4053$
Interacção	$P = 0,2781$	$P = 0,4558$

A **Figura 6.24** mostra os resultados obtidos na experiência de crómio. No que concerne à experiência do crómio, e tal como tinha sido observado no caso do zinco, registou-se ocorrência de MM sobretudo no 1º ano, mas ao contrário da experiência de Zn, na do Cr observou-se que os maiores resultados obtidos na MM ocorreram no 2º ano, a I1, para as amostras contaminadas. O maior valor de MM dos ensaios registou-se a CrII, com um valor médio de  $176 \text{ g.m}^{-2}$ . Estes valores sugerem, se tivermos em conta que a MM é maioritariamente constituída por folhas mortas, que os valores da produtividade das folhas a I1 no segundo ano das amostras contaminadas se aproximam dos valores de produtividades das folhas obtidos no respectivo controlo (ver ponto 6.3.2.2): os valores reais do controlo no 2º ano, para a produtividade das folhas rondam os  $470 \text{ g.m}^{-2}$ , de CrI os  $414 \text{ g.m}^{-2}$ , e os de CrII os  $420 \text{ g.m}^{-2}$ . Será interessante confrontar estes resultados com os resultados da fitoextração de Cr nesta biomassa, de modo a

averiguar se de algum modo a senescência das folhas de *A. donax* L. ocorre devido à contaminação deste metal, e se tal funciona como um mecanismo de tolerância ao Cr que esta espécie apresenta, i.e., translocação de Cr para as folhas mortas.



**Figura 6.24:** Manta Morta ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Repare-se que a planta obteve maiores produtividades de caules e folhas nas mesmas amostras onde ocorre maior senescência de folhas. De alguma forma, a planta pode garantir a sobrevivência e funcionalidade das estruturas vivas, translocando Cr para as folhas senescentes. Na experiência do Cr verifica-se que os resultados obtidos no parâmetro analisado neste ponto são sempre superiores nas amostras contaminadas que no respectivo controlo, sendo também superiores aos controlos de outros regimes de fornecimento hídrico. Os valores do 1º ano são muito similares em todas as amostras e para todos os regimes hídricos, e nem a contaminação, concentração metálica ou nível de fornecimento hídrico influenciam de forma significativa os resultados obtidos (**Quadro 6.25**). No segundo ano contudo, o efeito dos regimes hídricos faz-se sentir de forma significativa nos resultados obtidos. A ANOVA, contudo, e contrastando com a hipótese anterior, sugere que os tratamentos com Cr não influenciam de forma significativa os resultados, nem a interacção entre factores.

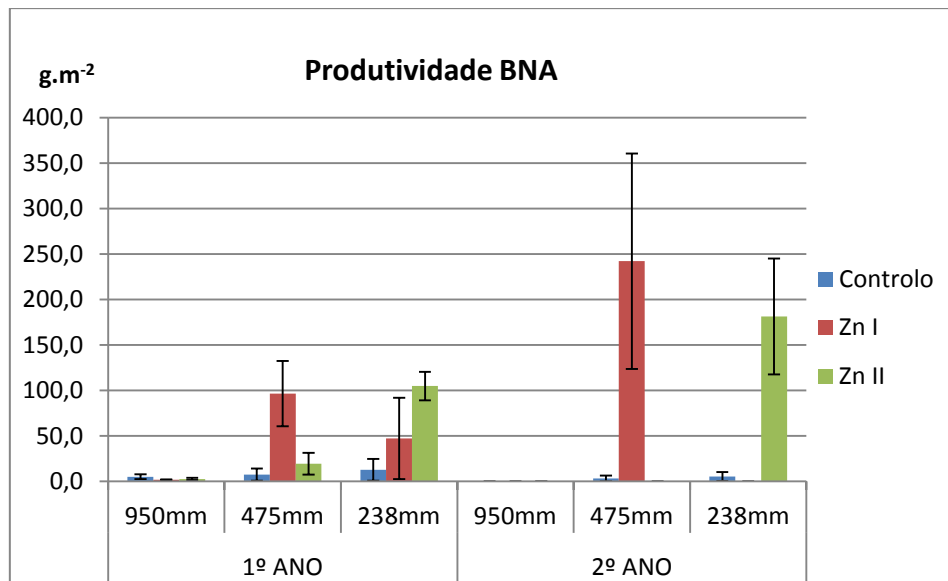
**Quadro 6.25** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para a MM ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Cr.

MM ( $\text{g.m}^{-2}$ ); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0,7434	P = 0,0284
Tratamentos metálicos	P = 0,0614	P = 0,4624
Interacção	P = 0,9864	P = 0,5326

Os resultados obtidos no segundo ano, onde quase não se regista MM, quer na experiência de Zn quer na Cr, explicam-se muito provavelmente pelo período de corte da biomassa ter ocorrido em novembro (2º ano), altura em que a biomassa está ainda verde. Ao contrário, os valores da biomassa do 1º ano, também se justificam pelo corte ter sido efectuado em janeiro, data em que a biomassa está mais seca e mais susceptível a senescência.

#### 6.3.2.4 Produtividade da *biomassa não-Arundo* (BNA)

A expressão *biomassa não-Arundo* (BNA) refere-se à biomassa, sobretudo viva e verde, mas por vezes morta, de outras espécies de plantas que também cresceram dentro dos vasos dos ensaios (de Zn e Cr), mesmo após crivagem dos solos. De facto, algumas sementes, de pequenas dimensões permaneceram no solo, e as das espécies tolerantes à contaminação testada, também cresceram, e em alguns casos produziram produtividades significativas. O corte desta biomassa ocorreu no período de corte da biomassa de *A. donax* L. Não foi feita a identificação das diferentes espécies que cresceram em cada vaso, mas as suas produtividades e qualidades foram tratadas em bruto e em conjunto, como pertencendo a um parâmetro só, a BNA. O interesse do seu estudo num trabalho dedicado ao *A. donax* L. remete para o facto de terem crescido nos mesmos vasos que as plantas objecto de estudo podendo ter extraído também uma determinada quantidade de metais, e de algum modo tal poder interferir com os resultados obtidos no *A. donax* L., sobretudo no caso da capacidade de fitoextração e balanço global de alguns elementos de que conhecemos as suas disponibilidades em diferentes períodos da experiência. Não foram analisadas as suas raízes, quer produtividades, quer a sua composição. As **Figuras 6.25 e 6.26** apresentam os resultados obtidos para este parâmetro nos dois anos da experiência.

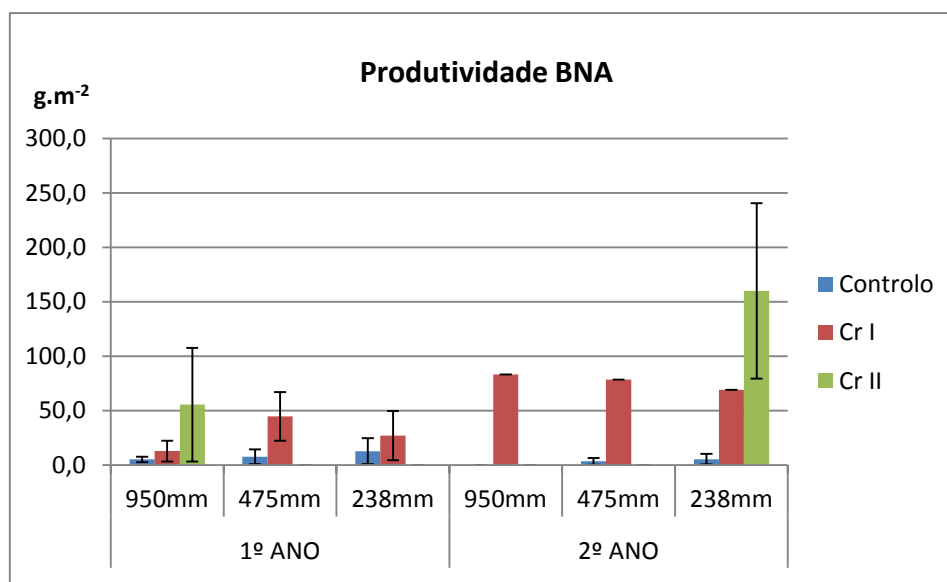


**Figura 6.25:** Produtividade da Biomassa Não Arundo ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Globalmente, nos vasos onde ocorreu crescimento de BNA, observa-se que as suas produtividades são maiores nas amostras contaminadas com Zn que nos respectivos controlos. A II, contudo, no segundo ano, onde foram registadas as maiores produtividades na biomassa de *A. donax* L., não se verifica a existência de crescimento de outras espécies. É possível que quando o crescimento da planta seja inibido, surja a oportunidade para o crescimento de outras espécies (que também são tolerantes às condições do vaso). Se olharmos para os resultados apresentados na Figura 6.27 observa-se que a 950 mm no 2º ano não cresce nenhuma destas espécies, mas foi precisamente nesse período e condições que se registaram maiores produtividades de caules e folhas de *A. donax* L. O **Quadro 6.26** apresenta os resultados da análise de variância efectuada aos dados do Zn para a BNA. Os regimes de fornecimento hídricos influenciam os resultados de forma significativa no 1º ano, mas não no 2º ano. Os tratamentos com Zn não influenciam de forma estatisticamente significativa os resultados em nenhum período da experiência, mas a interacção de ambos os factores influencia os resultados do 2º ano. É interessante observar que no 2º ano, é a interacção de ambos os factores e não nenhum dos factores de forma isolada a influenciar de forma estatisticamente significativa os resultados da produtividade da BNA, e reforçando o que se disse acima, também a interacção entre ambos os factores, para o mesmo período é bastante forte (positiva), quer no que concerne à produtividade dos caules quer na produtividade das folhas.

**Quadro 6.26** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades da BNA ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Zn.

Produtividades da BNA ( $\text{g.m}^{-2}$ ); experiência de Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0,0342	P = 0,1005
Tratamentos metálicos	P = 0,0864	P = 0,2899
Interacção	P = 0,0502	P = 0,0154



**Figura 6.26:** Produtividade da Biomassa Não Arundo ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Cr.

Nos vasos contendo os tratamentos CrI observa-se sempre crescimento de BNA em ambos os anos. Contudo, os maiores valores registam-se a I3, no 1º ano. O **Quadro 6.27** apresenta os resultados da ANOVA para a experiência de Cr. Verifica-se que nenhum dos factores em isolado ou em interacção influencia de forma estisticamente significativa os resultados no 1º ano, mas que a interacção entre ambos os factores interfere com os resultados do 2º ano, como também se tinha verificado na experiência de Zn.

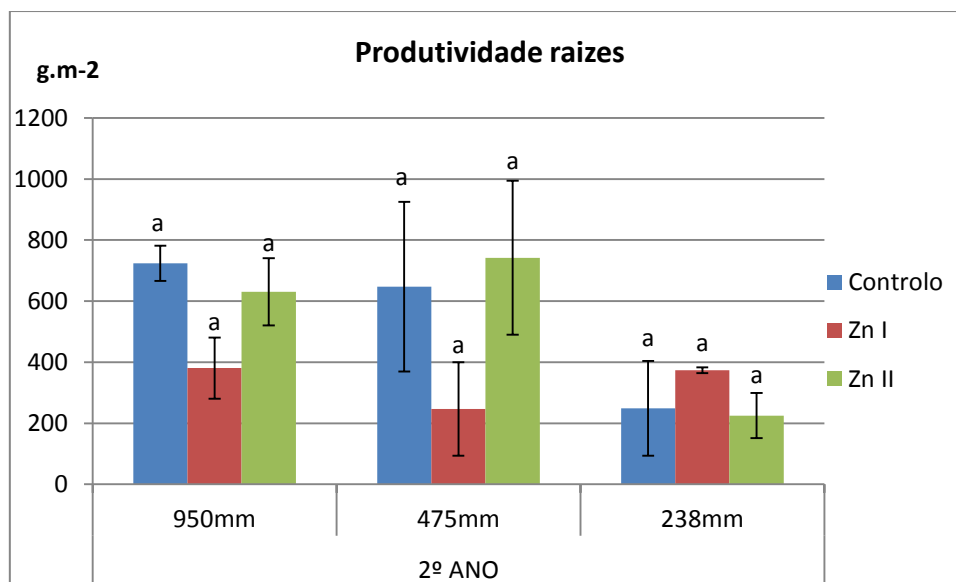
**Quadro 6.27** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades da BNA ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Cr.

Produtividades da BNA ( $\text{g.m}^{-2}$ ); experiência de Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0,0342	P = 0,1005
Tratamentos metálicos	P = 0,0864	P = 0,2899
Interacção	P = 0,0502	P = 0,0154

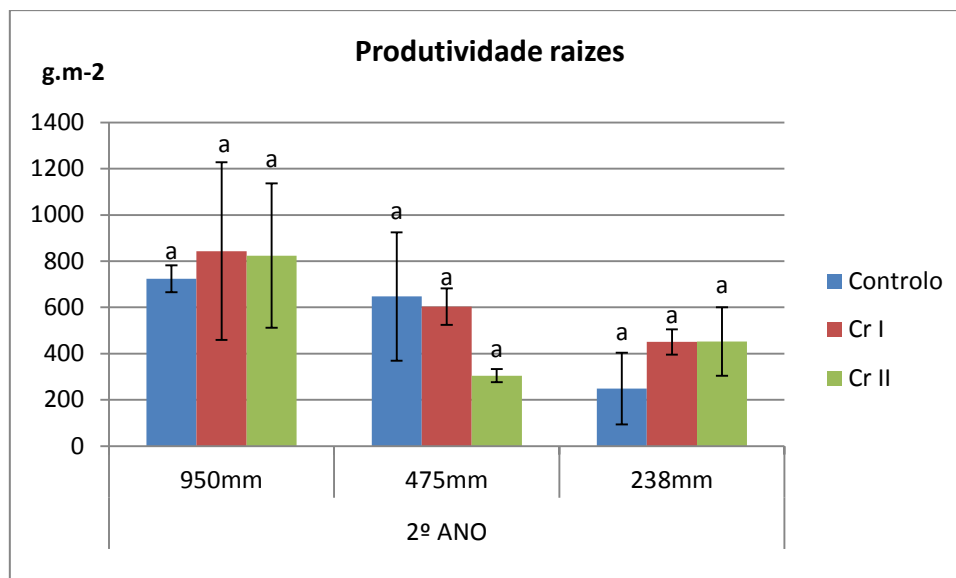


### 6.3.2.5 Produtividade das raízes

Em muitas espécies de plantas ocorre uma diminuição da razão entre a parte aérea e a subterrânea, decorrente de situações como a escassez hídrica, ou de nutrientes como o N e P (Varenes, 2003). Nos casos em que factores como os referidos são limitantes, a planta investe mais no sistema radicular, um mecanismo que lhe permite explorar um maior volume de solo. Interessa agora analisar as produtividades das componentes subterrâneas de *A. donax* L. e verificando se foram afectadas pelos tratamentos a que foram submetidas. As **Figuras 6.27 e 6.28** ilustram os resultados obtidos para a produtividade das raízes de *A. donax* L. nas experiências de Zn e Cr, respectivamente. A I1 e I2 obtiveram-se elevadas produtividades das raízes. Os maiores valores registam-se nos controlos, seguidos pelas amostras ZnII e finalmente nas ZnI. A 238 mm os valores de produtividade são ligeiramente inferiores aos registados nos restantes regimes de irrigação, embora, se atentarmos aos valores do tratamento ZnI, por exemplo, se tenham obtido valores superiores ( $391 \text{ g.m}^{-2}$ ) nas raízes, que no somatório entre folhas e caules ( $127 \text{ g.m}^{-2}$ ) para a mesma amostra. Os regimes de irrigação e os tratamentos com Zn influenciam de forma isolada os resultados das produtividades das raízes, contudo a interacção entre factores não os influenciou de forma significativa (**Quadro 6.28**). Os regimes de fornecimento hídrico I2 e I3 diferem de forma estatisticamente significativa entre si, mas I1 não difere nem de I2 nem de I3.



**Figura 6.27:** Produtividade das raízes ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).



**Figura 6.28:** Produtividade das raízes ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

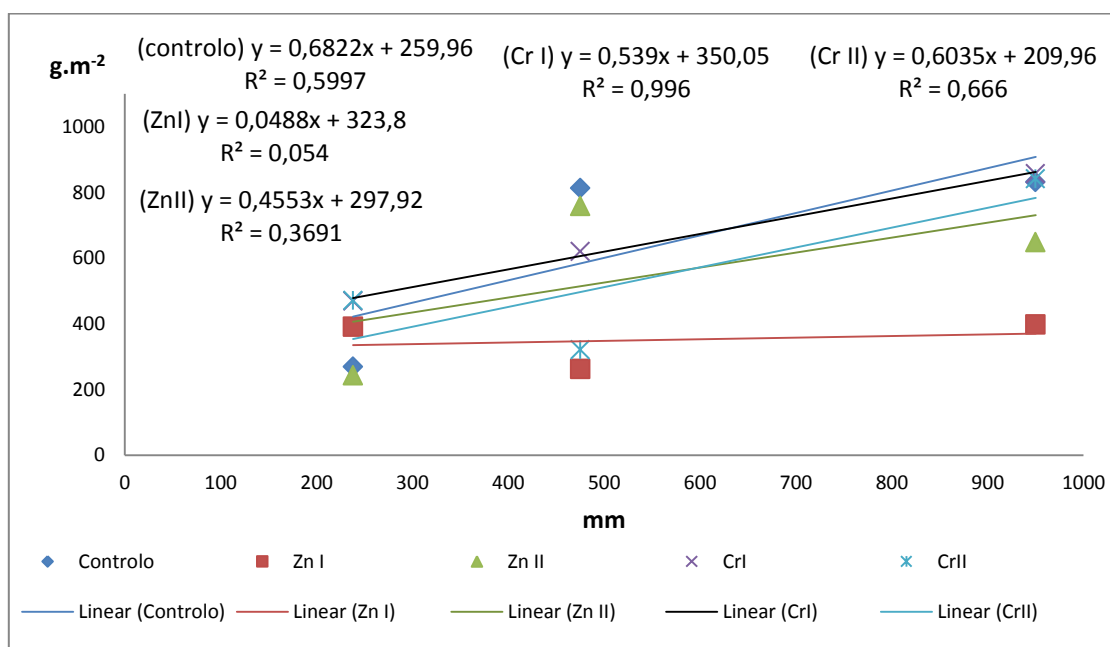
Os regimes de fornecimento de água afectam de forma estatisticamente significativa os resultados obtidos na experiência de Cr, contudo, tal não ocorre quer com os tratamentos com esse metal, nem mediante a interacção entre ambos os factores. Estes resultados, a par dos obtidos para o Zn, mostram um elevado investimento da planta na produção de raízes. Tal reflecte para uma eventual necessidade em algum nutriente (que será investigada no ponto da análise à qualidade da biomassa). Embora os resultados da ANOVA aqui sugiram que os tratamentos com Cr não tenham induzido diferenças na produtividade das raízes, poderão eventualmente induzir diferenças nas disponibilidades de nutrientes para as plantas. O tratamento estatístico aqui utilizado encontra-se limitado à análise individual de cada parâmetro.

**Quadro 6.28** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades das raízes ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Zn e Cr.

Produtividades das raízes ( $\text{g.m}^{-2}$ )	Experiência de Zn; ANOVA: factor duplo com repetição	Experiência de Cr; ANOVA: factor duplo com repetição
Fornecimento de água	$P = 0,0254$	$P = 0,0129$
Tratamentos metálicos	$P = 0,0690$	$P = 0,8134$
Interacção	$P = 0,1422$	$P = 0,3776$

Os resultados sugerem ainda que as plantas investiram mais nas componentes subterrâneas, sobretudo durante o primeiro ano, período em que estavam ainda a adaptar-se às condições do vaso. Depois, também faz parte da estratégia de vida e natureza da planta, acumular primeiro o máximo de reservas de nutrientes e só depois investir na parte aérea. Os resultados das componentes aéreas, nomeadamente os resultados superiores das produtividades obtidos no

segundo ano, estão em concordância com outras experiências em vaso e em campo obtidos por outros autores (Papazoglou et al, 2007). A **Figura 6.29** apresenta as correlações obtidas entre as produtividades obtidas nas raízes e os diferentes regimes de fornecimento hídrico, nas experiências de Zn e de Cr. Verifica-se que somente as produtividades das raízes crescidas nos vasos com CrI apresentam um índice de correlação forte. Para as restantes amostras o valor de  $R^2$  é mais baixo e no caso da amostra ZnI o valor é quase nulo. Verifica-se, portanto um aumento de produtividade em raízes com o aumento da quantidade adicionada de água, o qual é menos significativo com o aumento da contaminação, sobretudo com a contaminação em ZnI: verifica-se um decréscimo dos declives com o aumento da contaminação. A **Figura 6.29** confirma que no controlo e em CrI se verificam as maiores produções de raízes e que a produção de raízes em ZnI foi a mais afectada. Entre ZnII e CrII não se verificam diferenças e apresentam valores intermédios controlo/CrI e ZnI.

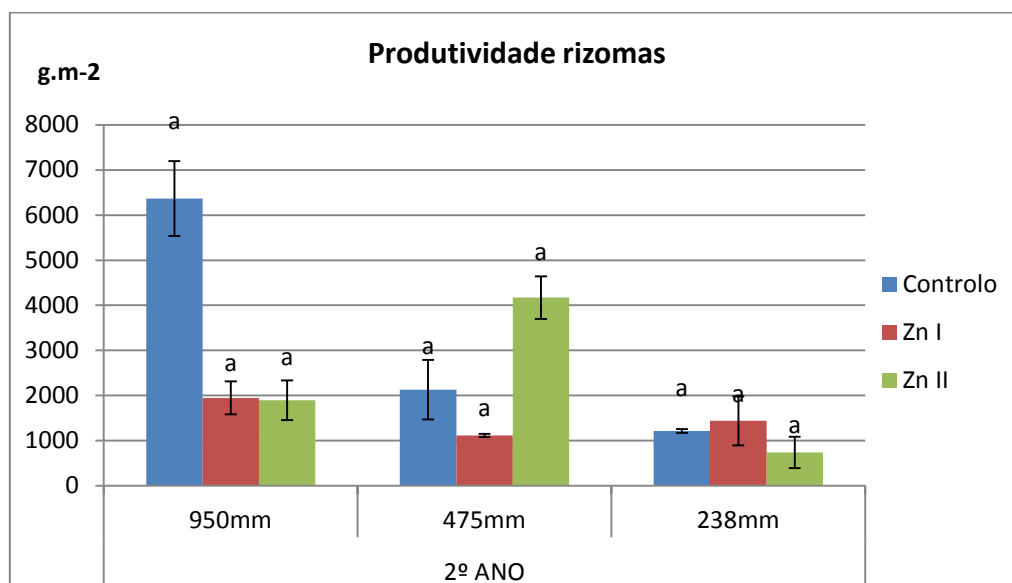


**Figura 6.29:** Correlação entre as produtividades das raízes com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr.

### 6.3.2.6 Produtividade dos rizomas

Os rizomas consistem em caules subterrâneos, modificados, de cujos nós emergem diversos brotos, dos quais se desenvolvem caules e folhas. É ainda um órgão onde ocorre a acumulação de reservas que serão utilizadas na produção de uma nova parte aérea quando as condições sejam favoráveis ao crescimento. Os factores edafo-climáticos são importantes no despontar de novos brotos, embora nos nossos ensaios após corte das componentes aéreas, tenha ocorrido um imediato despontar de novos brotos do rizoma (2-3 dias após o corte das componentes aéreas).

A **Figura 6.30** apresenta os resultados para a produtividade dos rizomas para a experiência de Zn. Os rizomas foram as componentes mais produtivas da biomassa de *A. donax* L., e os controlos a II, as amostras mais produtivas dos ensaios de Zn (3632 g.m<sup>-2</sup>). Regista-se a este regime hídrico que as amostras com maior contaminação apresentaram produtividades inferiores às amostras com menor contaminação e controlo. Os níveis de fornecimento hídrico e os tratamentos com Zn não influenciam de forma estatisticamente significativa os resultados, de forma independente ou em interacção (**Quadro 6.29**).



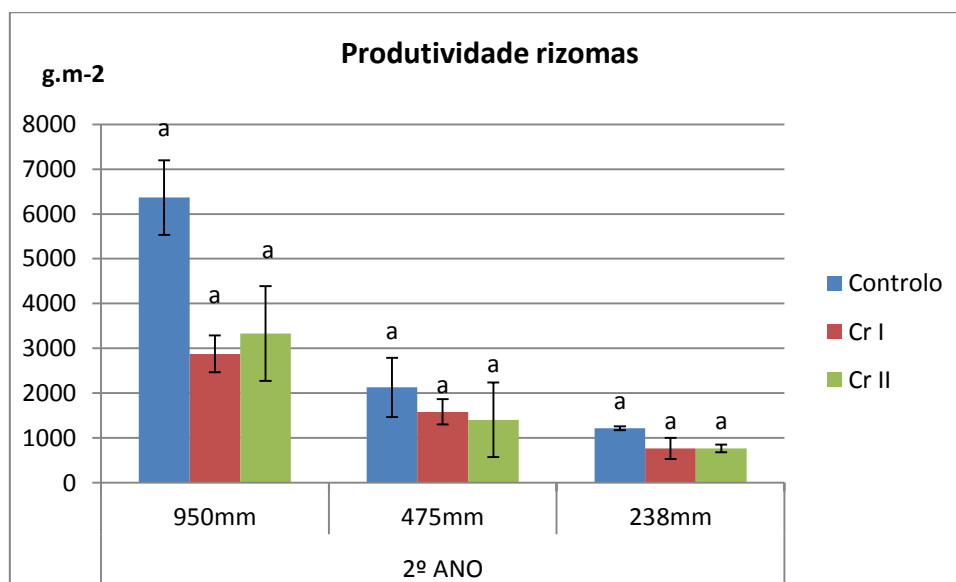
**Figura 6.30:** Produtividade dos rizomas (g.m<sup>-2</sup>) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

**Quadro 6.29** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as produtividades dos rizomas (g.m<sup>-2</sup>) na experiência de Zn e Cr.

Produtividades dos rizomas (g.m <sup>-2</sup> )	Experiência de Zn; ANOVA: factor duplo com repetição	Experiência de Cr; ANOVA: factor duplo com repetição
Fornecimento de água	P = 0,1293	P = 0,0146
Tratamentos metálicos	P = 0,1888	P = 0,8531
Interacção	P = 0,1640	P = 0,9819

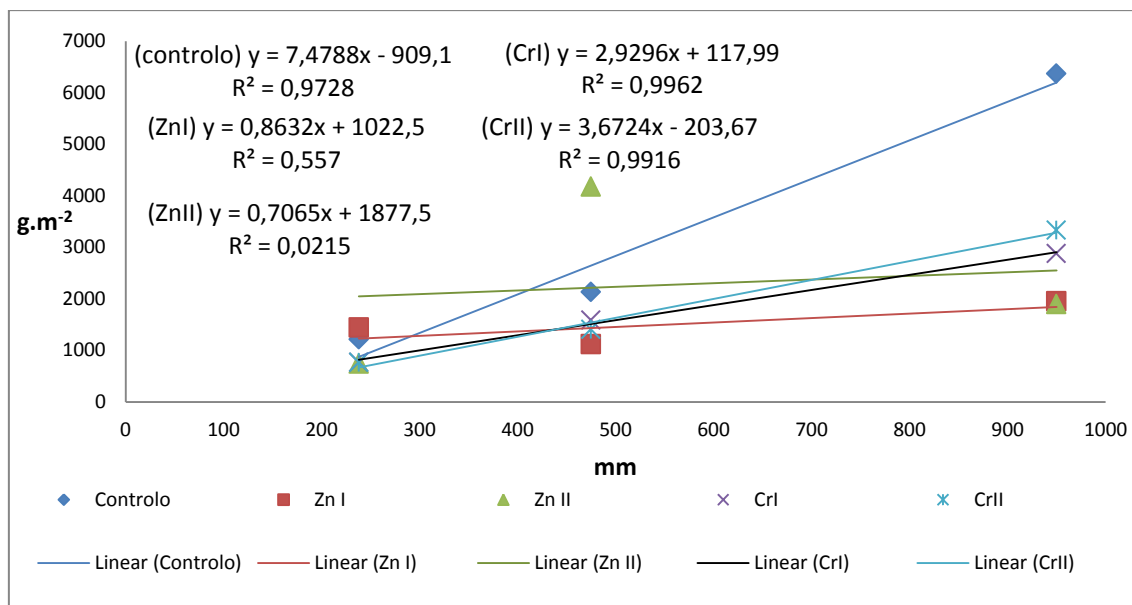
Percebe-se da análise do Quadro 6.29 e da **Figura 6.31** que os regimes de fornecimento hídrico influenciam de forma estatisticamente significativa os resultados da produtividade de rizomas na experiência de Cr. De facto, a 950 mm (um valor mais próximo das exigências óptimas da espécie) todas as amostras, mesmo as contaminadas apresentam maiores valores nas produtividades. Contudo, o investimento nesta fracção subterrânea, é notável, se considerarmos que os rizomas apresentavam inicialmente 79 g (valor médio), e quando pensarmos no facto deles terem crescido em vasos com 12 kg de solo, com um espaço muito reduzido. Os

tratamentos com Cr não afectaram de forma estatisticamente significativa os resultados da experiência de crómio, e portanto, não é a exposição ao metal no solo que condiciona as elevadas acumulações de reservas nos rizomas de *A. donax* L.. A estratégia adaptativa, e tendo em conta a presença de outras espécies no vaso, também a estratégia competitiva da espécie, são causas mais prováveis para esse facto.



**Figura 6.31:** Produtividade dos rizomas ( $\text{g.m}^{-2}$ ) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

A **Figura 6.32** apresenta as correlações obtidas entre as produtividades obtidas nos rizomas e os diferentes regimes de fornecimento hídrico, nas experiências de Zn e de Cr. Somente a amostra CrII apresenta um maior valor de  $R^2$ . Todas as restantes produtividades dos rizomas parecem não estar correlacionadas com os diferentes fornecimentos hídricos fornecidos. Outros factores que influenciam as produtividades parecem prevalecer sobre o regime de fornecimento hídrico. Nota-se, no entanto, na figura, um aumento de produtividade dos rizomas com o aumento da quantidade adicionada de água, o qual é menos significativo com a contaminação, sobretudo com a contaminação em Zn. A **Figura 6.32** confirma que o controlo é mais produtivo e que o Zn afecta de forma mais significativa a produção do que o Cr, sobretudo com níveis de rega mais elevados. Entre níveis de contaminação para o mesmo metais (ZnI/ZnII e CrI/CrII) não se verificam diferenças de comportamento.



**Figura 6.32:** Correlação entre as produtividades dos rizomas com os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr.

### 6.3.2.7 Análise das produtividades aéreas e subterrâneas

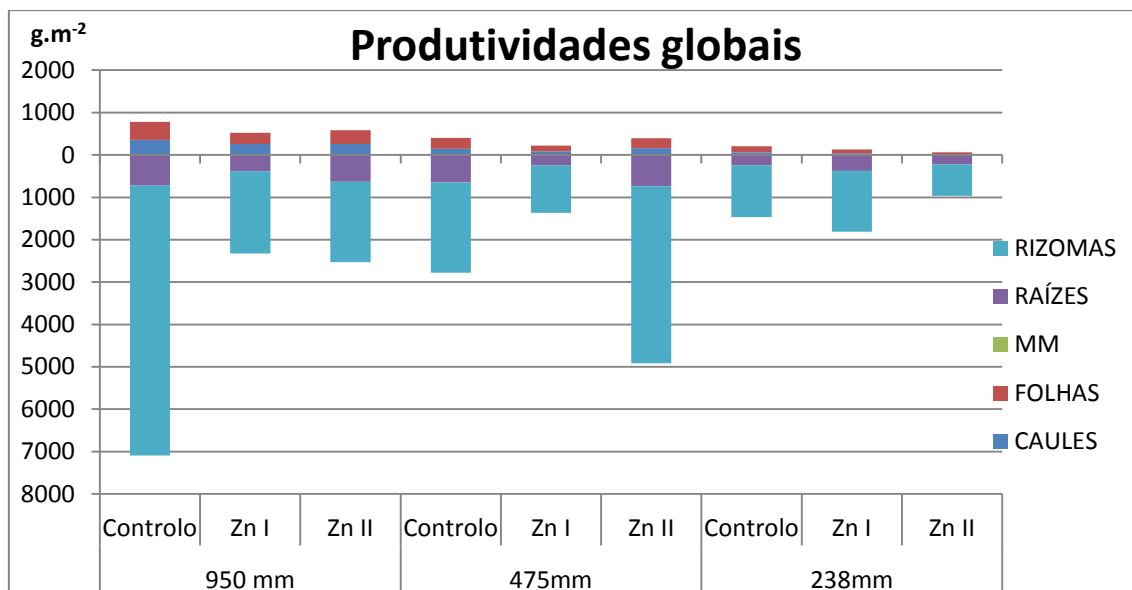
Este ponto apresenta uma análise global das produtividades aéreas e subterrâneas. As componentes aéreas englobam as produtividades das folhas e caules às quais se adicionaram as da MM (biomassa de *A. donax* L.), enquanto as produtividades das componentes subterrâneas englobam o somatório das produtividades das raízes e rizomas. O **Quadro 6.30** apresenta os resultados obtidos na experiência de Zn para as produtividades globais de todas as componentes de *A. donax* L. e BNA.

Da observação do quadro referido, assim como da **Figura 6.33** percebe-se que, globalmente, o controlo a II é a opção que produz mais matéria seca por unidade de área, seguido-se ZnII a I2. Analisando de forma individual cada componente, verifica-se que é também o controlo que produz maior biomassa aérea, de folhas, de caules, de raízes e de rizomas.

**Quadro 6.30** – Produtividades globais dos ensaios ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Zn. Apresentam-se os valores de produtividade por fracção da planta para os dois anos de ensaios, para cada tratamento e nível de fornecimento hídrico. Os valores da MM referem-se às massas expressas por metro quadrado de folhas mortas. SR refere-se ao sistema radicular (somatório de componentes subterrâneas).

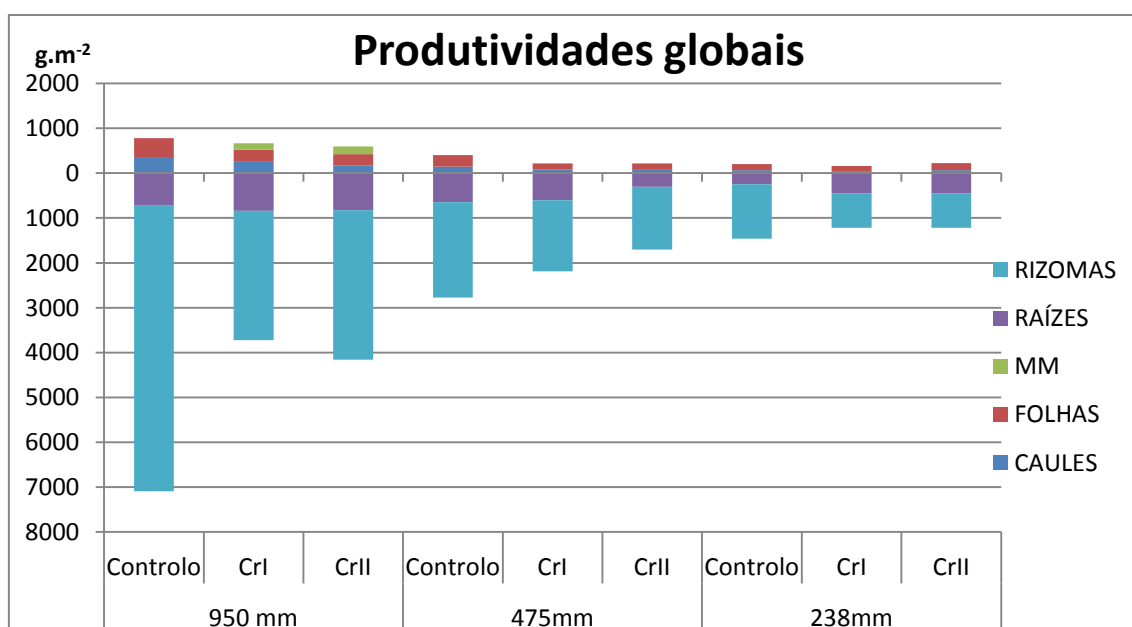
Produtividade global ( $\text{g m}^{-2}$ )		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
Caules	950 mm	157±2	56.0±45.1	76.3±35.5	360±77	255±89	259±68
	475 mm	75.9±10.0	30.0±14.3	88.4±18.0	141±1	86.6±39.6	162±27
	238 mm	24.1±5.0	47.5±16.4	35.3±10.6	63.2±16.3	41.6±34.5	17.1±8.7
Folhas	950 mm	141±11	99.8±57.9	161±9	417±26	268±68	326±70
	475 mm	172±60	100±8.8	185±43	259±69	132±48	232±13
	238 mm	42.9±5.9	112±43	90.5±10.0	141±10	85.4±51.5	47.4±18.5
MM	950 mm	29.2±11.4	126±68	61.9±10.6	0	0	0
	475 mm	18.4±2.4	29.2±8.7	76.3±25.1	0	0	0
	238 mm	19.5±1.4	47.5±18.0	55.4±4.3	0	0	0
AÉREA	950 mm	327±22	282±171	299±55	775±103	523±158	584±138
	475 mm	266±73	159±14	350±86	398±68	218±88	394±40
	238 mm	86.5±9.5	207±77	181±16	203±27	127±86	64.4±27.2
BNA	950 mm	5.16±2.57	1.78±0.35	2.69±1.22	0	0	0
	475 mm	7.64±6.70	96.6±35.8	19.6±11.9	3.36±3.12	242±119	0
	238 mm	12.7±11.9	47.2±44.7	105±16	5.30±4.85	0	182±64
Raízes	950 mm	-	-	-	724±58	381±100	631±110
	475 mm	-	-	-	647±278	247±153	742±252
	238 mm	-	-	-	249±155	374±9	225±74
Rizomas	950 mm	-	-	-	6367±832	1948±365	1896±437
	475 mm	-	-	-	2129±660	1116±32	4173±471
	238 mm	-	-	-	1214±41	1439±542	738±346
SR	950 mm	-	-	-	7091±774	2328±265	2527±547
	475 mm	-	-	-	2776±938	1363±121	4915±724
	238 mm	-	-	-	1463±115	1813±551	963±420

A produtividade aérea para a amostra controlo a I1, no 2º ano, quando expresso em  $\text{Mg.ha}^{-1}$ , devolve um valor de  $7 \text{ Mg.ha}^{-1}$ , um valor baixo de produtividades quando comparado com as produtividades referidas por Hidalgo e Fernández (2001), Shatalov e Pereira (2002), Venturi e Monti (2005) e El Bassam (2010). O efeito de vaso, mas também algumas condições dos ensaios, como a baixa luminosidade contribuíram, para além dos tratamentos, para a redução das produtividades globais. Dentre as amostras contaminadas, a amostra ZnII a I2 apresenta as maiores produtividades globais. A amostra ZnI a I1 apresenta o maior valor de biomassa aérea entre as amostras contaminadas, sendo superior a I1 que a I2 e I3. Papazoglou (2007) obtém produtividades aéreas inferiores no 2º ano na resposta de *A. donax* L. a três níveis de contaminação com Cd e Ni, um facto que não se verificou na nossa experiência, nem com Zn nem com Cr.



**Figura 6.33:** Produtividade global (g.m<sup>-2</sup>)(2º ano) e proporções entre as produtividades de cada fracção da biomassa de *A. donax* L. registadas na experiência de Zn.

O **Quadro 6.31** e a **Figura 6.34** apresentam as produtividades globais dos ensaios de Cr, assim como as proporções entre as componentes subterrâneas e aéreas, e ainda de cada fracção de *A. donax* L. no tempo dos ensaios. Todas as amostras dos regimes de fornecimento hídrico mais elevado produzem maiores produtividades globais, aéreas e subterrâneas.



**Figura 6.34:** Produtividade global (g.m<sup>-2</sup>)(2º ano) e proporções entre as produtividades de cada fracção da biomassa de *A. donax* L. registadas na experiência de Cr.

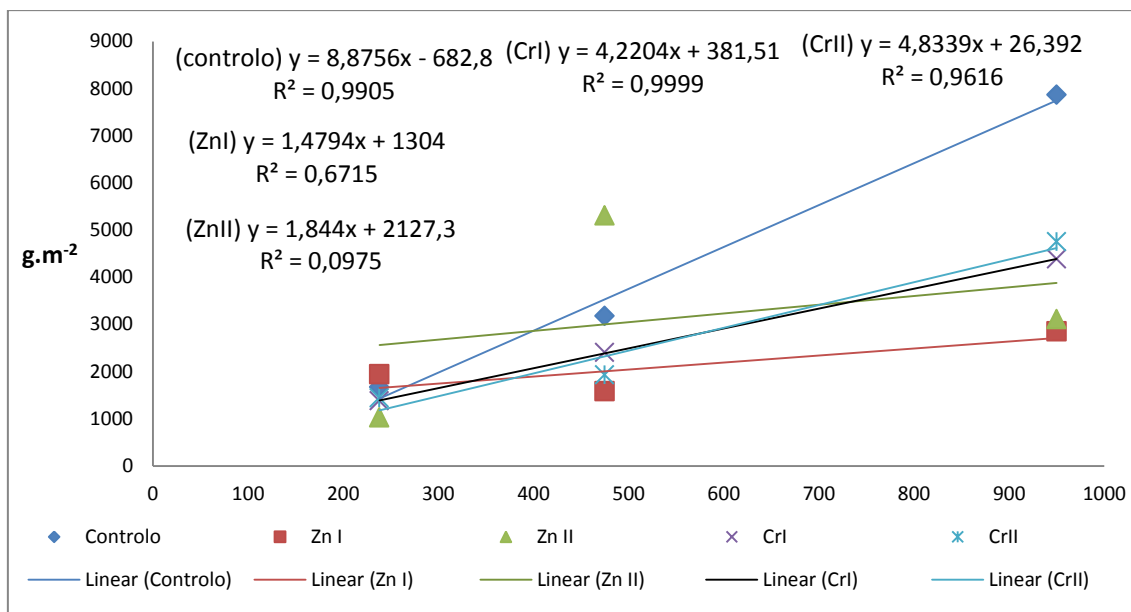


**Quadro 6.31** – Produtividades globais dos ensaios ( $\text{g.m}^{-2}$ ) na experiência de Cr. Apresentam-se os valores de produtividade por fracção da planta para os dois anos de ensaios, para cada tratamento e nível de fornecimento hídrico. Os valores da MM referem-se às massas expressas por metro quadrado de folhas mortas.

Produtividade global ( $\text{g m}^{-2}$ )		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
Caules	950 mm	157±2	178±79	132±59	360±77	252±50	175±19
	475 mm	75.9±10.0	22.2±8.2	38.0±1.6	141±1	81.9±16.4	74.8±19.9
	238 mm	24.1±5.0	33.3±13.0	33.4±8.2	63.2±16.3	47.8±17.1	64.3±25.6
Folhas	950 mm	141±11	168±75	244±147	417±26	268±60	244±41
	475 mm	172±60	65.0±24.0	170±29	259±69	132±11	145±37
	238 mm	42.9±5.9	66.0±21.4	118±23	141±10	112±32	162±54
MM	950 mm	29.2±11.4	41.9±9.1	27.5±6.3	0	147±42	176±141
	475 mm	18.4±2.4	43.8±14.5	25.6±12.9	0	0	0
	238 mm	19.5±1.4	50.8±5.6	40.7±27.1	0	0	0
AÉREA	950 mm	327±22	388±120	403±171	775±103	617±98	525±179
	475 mm	266±73	131±30	234±17	398±68	215±6	237±74
	238 mm	86.5±9.5	150±29	192±58	203±27	160±49	226±80
BNA	950 mm	5.16±2.57	12.7±9.5	55.4±52.2	0	83.3±3.3	0
	475 mm	7.64±6.70	44.7±22.4	0	3.36±3.12	78.5±5.8	0
	238 mm	12.7±11.9	27.0±22.7	0	5.30±4.85	69.2±2.8	160±81
Raízes	950 mm	-	-	-	724±58	843±384	824±312
	475 mm	-	-	-	647±278	603±79	304±28
	238 mm	-	-	-	249±155	450±54	452±149
Rizomas	950 mm	-	-	-	6367±832	2876±412	3331±1056
	475 mm	-	-	-	2129±660	1584±281	1402±833
	238 mm	-	-	-	1214±41	766±239	763±85
SR	950 mm	-	-	-	7091±774	3720±725	4156±995
	475 mm	-	-	-	2776±938	2187±361	1706±861
	238 mm	-	-	-	1463±115	1216±184	1215±233

A amostra controlo em I1, tal como também se tinha observado na experiência de Zn apresenta os maiores resultados dos ensaios para as produtividades globais, mas também de caules, folhas e rizomas. A maior produtividade de raízes surge no mesmo nível de fornecimento hídrico mas para a amostra CrI (mas sem diferenças face a controlo e CrII). CrI em I1 apresenta uma produtividade global semelhante a CrII no mesmo regime de fornecimento hídrico. Estas duas amostras são aquelas que produzem também maior biomassa de folhas que entrou em senescência (MM). Globalmente, quer no caso dos ensaios com Zn, quer com Cr, verifica-se que a biomassa radicular representa mais de 80% da produtividade global. Também Papazoglou (2007) registou maiores produtividades da biomassa radicular de *A. donax* L. na resposta a Cd e Ni, numa experiência de dois anos, em ambos os anos. Os nossos valores nas produtividades das componentes subterrâneas a 950 mm são superiores aos obtidos por Papazoglou (2007) nos tratamentos com maior contaminação de Ni e Cd ( $100 \text{ mg.dm}^{-3}$  Ni e Cd), no primeiro e segundo ano. Não sabemos, contudo, a massa inicial dos rizomas utilizados pelo autor.

A **Figura 6.35** apresenta as correlações obtidas entre as produtividades globais (soma da fracção aérea com a radicular) da biomassa de *Arundo donax* L. e os diferentes regimes de fornecimento hídrico, nas experiências de Zn e de Cr.



**Figura 6.35:** Correlação entre as produtividades globais (aérea e radicular)(2º ano) da biomassa de *Arundo donax* L. e os diferentes regimes de fornecimento hídricos para a experiência do Zn e do Cr.

Com excepção da amostra ZnII que apresenta baixo valor de  $R^2$  todas as restantes amostras apresentam índices de correlação elevados. Tal como se verificou anteriormente para as diferentes fracções da biomassa, identifica-se um aumento de produtividade global com o aumento da quantidade adicionada de água, o qual é menos significativo com a contaminação, sobretudo com a contaminação em Zn. Confirma-se que o controlo é mais produtivo e que o Zn afecta de forma mais significativa a produção do que o Cr, sobretudo com níveis de rega mais elevados. Entre níveis de contaminação para o mesmo metais (ZnI/ZnII e CrI/CrII) não se verificam diferenças de comportamento. Esta diferença observada entre o Cr e o Zn pode ser explicada pelo fato da lama de Zn ser considerada muito tóxica e a lama de Cr não, embora em termos de quantidades introduzidas nos solos, em ambos os ensaios se ter utilizado os limites e o dobro dos limites instituídos pelo decreto-lei 276/2009.

## 6.4 Análise da qualidade da biomassa de *A. donax* L.

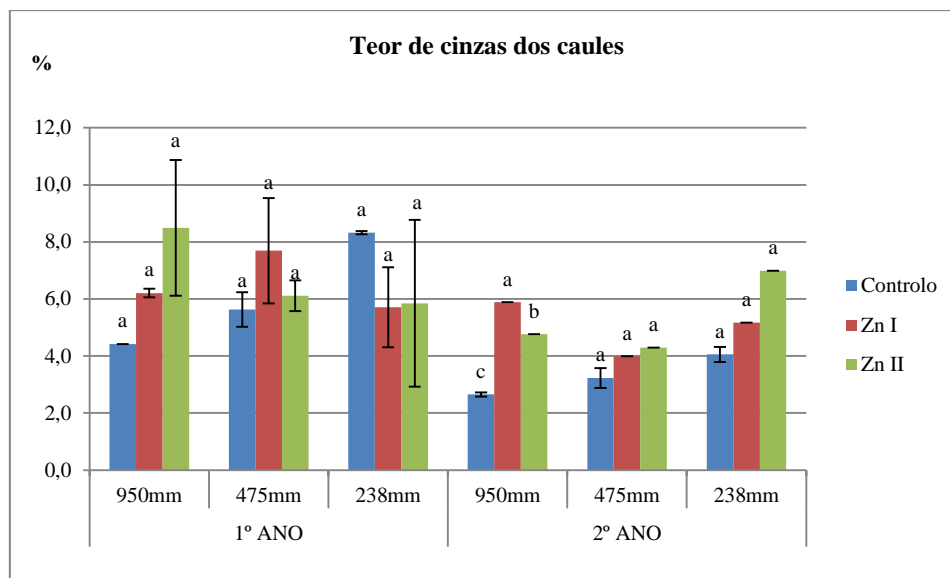
### 6.4.1 Teor de cinzas da biomassa na experiência de zinco

Neste ponto são analisados os teores de cinzas de cada fracção da biomassa de *A. donax* L., de um modo global. Desta análise pretende-se obter um panorama relativo à qualidade da biomassa para fins de produção de energia. Considere-se que teores elevados de cinzas, e dependendo da sua composição mineral poderão representar biomassas de qualidade inferior no que concerne à produção de bioenergia (sobretudo nos caules, a componente das plantas mais interessante para esse fim) assim como envolver emissões de compostos com efeitos nocivos para o ambiente (Nasso et al., 2010; Pilu et al., 2012). O **Quadro 6.32** apresenta os resultados obtidos no teor de cinzas das diferentes fracções da biomassa de *A. donax* L. e da BNA para ambos os ciclos de crescimento e para a experiência de Zn.

**Quadro 6.32** – Teor de cinzas (%) nas diferentes componentes da biomassa de *A. donax* L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Zn.

Teor de cinzas (%)		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
Caules	950 mm	4.42±0.42	6.21±0.15	8.49±2.38	2.65±0.07	5.88±0.05	4.76±0.07
	475 mm	5.63±0.60	7.69±1.84	6.11±0.54	3.23±0.35	3.99±0.06	4.29±0.04
	238 mm	8.32±0.06	5.71±1.40	5.85±2.92	4.05±0.26	5.17±0.05	6.99±0.07
Folhas	950 mm	11.0±0.8	13.0±0.3	15.2±0.6	7.87±0.71	14.8±2.1	14.4±1.6
	475 mm	11.9±0.7	14.5±2.1	11.9±1.0	8.48±0.27	10.8±0.5	11.1±0.0
	238 mm	11.6±0.5	12.0±0.1	11.1±0.1	9.18±0.19	9.88±2.4	11.1±1.7
MM	950 mm	40.9±3.8	42.9±2.5	49.9±5.1	-	-	-
	475 mm	41.1±2.3	36.8±8.5	30.9±10.9	-	-	-
	238 mm	38.2±0.2	34.4±1.3	17.2±2.9	-	-	-
BNA	950 mm	-	-	-	-	-	-
	475 mm	-	12.6±0.9	18.4±1.04	-	12.6±7.6	-
	238 mm	-	26.8±14.2	14.3±1.21	-	-	9.18±1.02
Raízes	950 mm	-	-	-	84.1±5.1	49.2±12.5	73.0±7.1
	475 mm	-	-	-	77.3±3.1	74.6±0.00	53.6±3.1
	238 mm	-	-	-	87.0±4.4	61.6±14.6	68.8±9.2
Rizomas	950 mm	-	-	-	11.1±0.7	9.99±0.28	10.5±0.3
	475 mm	-	-	-	11.8±0.6	9.53±0.05	22.1±2.5
	238 mm	-	-	-	15.1±0.7	20.6±5.6	13.8±1.2

A **Figura 6.36** apresenta os resultados do teor de cinzas nos caules dos ensaios de Zn.



**Figura 6.36:** Teor de cinzas nos caules (%; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Da análise da figura anterior e do Quadro 6.32 percebe-se que no 1º ano, onde se tinham registado menores produtividades que no 2º, se obtiveram biomassas de caules com maiores teores de cinzas. A amostra controlo do segundo ano, que registou as maiores produtividades dos caules nos ensaios regista o menor valor de teor de cinzas dos ensaios. Para as amostras contaminadas, verifica-se que os menores valores de cinzas se observam a I2 no segundo ano, a ZnI (3.98%, matéria seca). A ANOVA destes resultados (**Quadro 6.33**) mostrou que ambos os factores de tensão não influenciam os resultados do teor de cinzas de forma isolada ou em interacção, no primeiro ciclo de crescimento das plantas. No segundo ano ocorre precisamente o oposto, os factores de forma isolada e em interacção afectam de forma estatisticamente significativa os resultados. Verificamos que essa diferença ocorre entre as diferentes amostras a 950 mm, sendo que todas as amostras: contaminadas e controlo; diferem de forma estatisticamente significativa entre si. Nos restantes regimes de fornecimento hídrico (2º ano) as amostras não diferem entre si de forma estatisticamente significativa. Tínhamos visto que se registavam menores produtividades dos caules em amostras com menores fornecimentos hídricos. Podemos acrescentar agora, que a menores produtividades se aliam menores qualidades de biomassa para fins de bioenergia. Esta biomassa, contendo elevados teores de cinzas, como é o caso do valor da amostra ZnII a I3 no 2º ano (7%, matéria seca), envolve a produção de compostos gasosos nocivos para o ambiente quando submetida a combustão, não sendo por isso interessante do ponto de vista da produção de bioenergia (Nasso et al., 2010; Pilu et al., 2012). O mesmo pode ser dito para as restantes amostras contaminadas, com teores em cinza quase todas acima de 5% (matéria seca). A elevada acumulação de nutrientes e outros

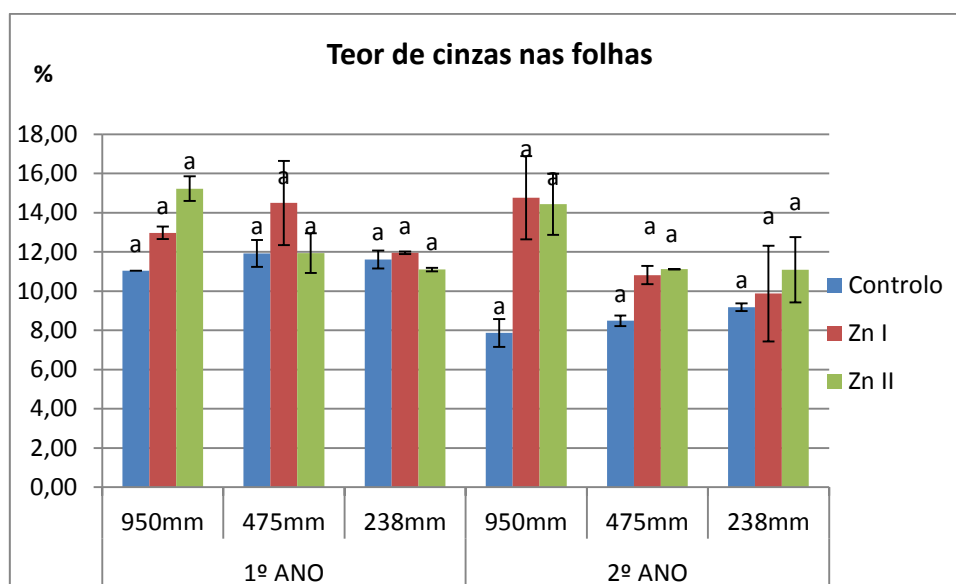
elementos traduz-se na presença de elevados teores de cinzas, e a fornecimentos hídricos superiores aumenta a assimilação de nutrientes na biomassa.

**Quadro 6.33** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas dos caules (%; matéria seca) na experiência de Zn.

Teor de cinzas dos caules (%; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0,9623	P = 1.0E-6
Tratamentos metálicos	P = 0.7592	P = 8.0E-8
Interação	P = 0,0957	P = 1.0E-5

Da análise global do **Quadro 6.32** percebe-se que a fracção das plantas de *A. donax* L. mais interessante para a produção de bioenergia são os caules, por conterem menores teores de cinzas. A sua valorização implica contudo que estas componentes sejam separadas das folhas, numa situação real em que as condições dos nossos ensaios fossem reproduzidas em campo. Se deixadas mais tempo no campo as folhas também ficariam mais secas e depositar-se-iam no solo após senescência, facilitando o corte dos caules (em Dezembro-Janeiro). De facto, nos nossos ensaios obtivemos teores de cinzas muito elevados nas folhas (em torno dos 12% para o controlo do 1º ano, e 8% no segundo, para a mesma amostra).

A **Figura 6.37** e o **Quadro 6.34**, mostram os resultados para o teor de cinzas das folhas na experiência de Zn.



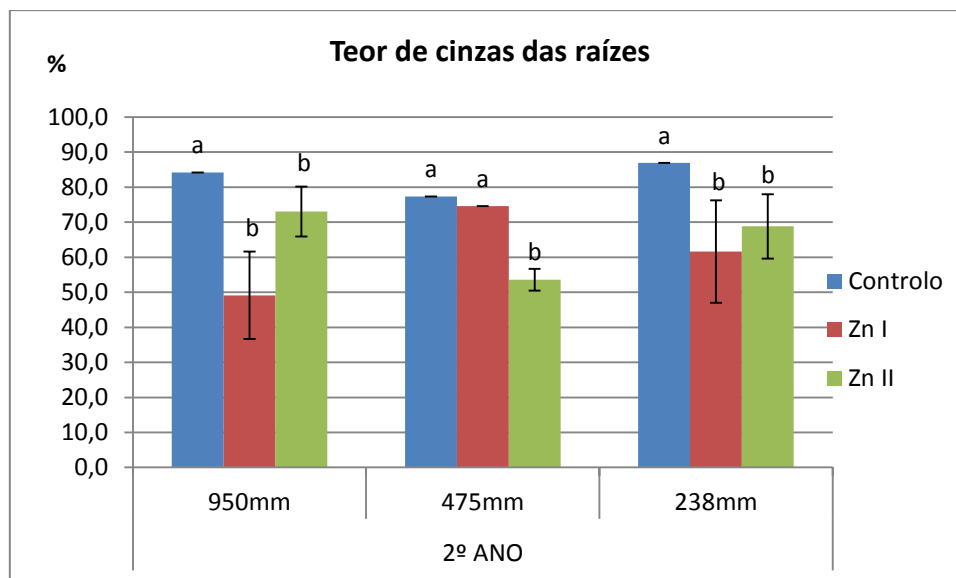
**Figura 6.37:** Teor de cinzas nas folhas (%; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Verifica-se uma tendência ligeiramente diferente da observada nos caules. Efectivamente, o teor de cinzas das folhas no segundo ciclo de crescimento é superior aos teores observados nos caules do mesmo ano e nas folhas do primeiro ano. Factores de tensão de forma isolada e em interacção não exercem efeito de forma estatisticamente significativa nos resultados do teor de cinzas observado nas folhas, na experiência de Zn.

**Quadro 6.34** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas (%; matéria seca) das folhas na experiência de Zn.

Teor de cinzas das folhas (%; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição	ANOVA: factor duplo com repetição 2º
	1º Ano, Zn	Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0,1307	P = 0.5868
Tratamentos metálicos	P = 0.1098	P = 0.3062
Interacção	P = 0,0747	P = 0.8548

O teor de cinzas da MM é muito elevado, valores que se justificam não só pelo facto de ter sido nas folhas mortas que um maior conteúdo metálico possa ter ficado acumulado, mas também devido ao facto desta biomassa ter ficado misturada com o solo, nos vasos, e ter sido difícil separar eventuais partículas de solo aquando da realização das análises laboratoriais do teor de cinzas. A mesma justificação, e de forma mais proeminente, pode ser dada para os valores das componentes subterrâneas de *A. donax* L., sobretudo para as raízes. Percebe-se que é ao nível destas componentes que ocorre maior acumulação de elementos na biomassa. A **Figura 6.38** apresenta os resultados para o teor de cinzas na biomassa de raízes. Verifica-se que os regimes de fornecimento hídrico não influenciam de forma estatisticamente significativa os resultados ( $P = 0.7976$ ; ANOVA) assim como a interacção entre factores ( $P = 0.1722$ ; ANOVA), mas que os tratamentos com Zn influenciam de forma estatisticamente significativa os resultados do teor de cinzas nas raízes ( $P = 0.0280$ ; ANOVA). De facto, os tratamentos metálicos não diferem de forma estatisticamente entre si (ambas as contaminações), mas diferem de forma estatisticamente significativa do respectivo controlo. O valor mais baixo do teor de cinzas das raízes regista-se na amostra ZnI a I1 (49%).



**Figura 6.38:** Teor de cinzas nas raízes (%; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no que concerne aos teores de cinza dos rizomas para os níveis de fornecimento hídrico ( $P = 0.0673$ ; ANOVA), tratamentos ( $P = 0.2203$ ; ANOVA) e respectiva interacção ( $P = 0.0554$ ; ANOVA).

#### 6.4.2 Teor de cinzas da biomassa na experiência de crómio

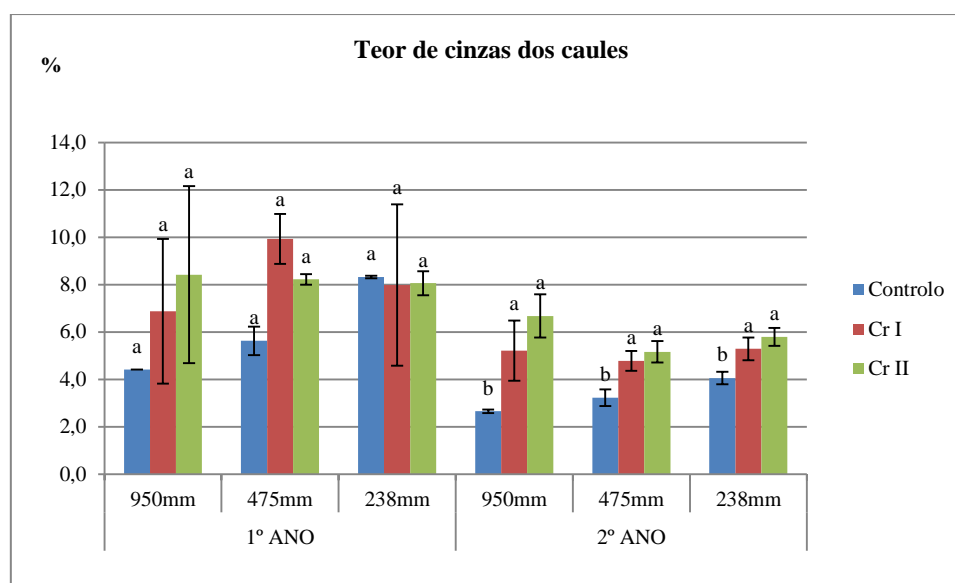
Neste ponto são analisados os teores de cinzas de cada fracção da biomassa de *A. donax* L., na experiência de crómio (**Quadro 6.35**). Também aqui se percebe que a componente mais interessante do ponto de vista de produção de bioenergia são os caules, por apresentarem os menores teores de cinzas (%).

Na experiência de Cr (**Figura 6.39** e **Quadro 6.36**) verifica-se que os factores de tensão não influenciam de forma estatisticamente significativa os resultados do teor de cinzas dos caules, de forma isolada ou em interacção, durante o primeiro ano, mas no decorrer do segundo ano, os tratamentos com Cr influenciam os resultados. De facto, encontramos diferenças entre o tratamento controlo e as amostras contaminadas com Cr, mas estas não diferiam entre si de forma estatisticamente significativa. Verifica-se também aqui que o teor de cinzas nos caules é superior no 1º ano, e tendencialmente maior nos regimes de fornecimento de água I2 e I3 que a I1. É interessante notar que quando se fornece menos água às amostras controlo aumenta o teor de cinzas, uma tendência verificada em ambos os ciclos de crescimento da cultura. De um modo

geral, para amostras com maior concentração de Cr no solo verifica-se um maior teor de cinzas nos caules de *A. donax* L.

**Quadro 6.35** – Teor de cinzas (%) nas diferentes componentes da biomassa de *A. donax* L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Cr.

Teor de cinzas (%)		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
Caules	950 mm	4.42±0.42	6.87±3.06	8.42±3.74	2.65±0.07	5.21±1.27	6.68±0.92
	475 mm	5.63±0.60	9.93±1.05	8.22±0.22	3.23±0.35	4.78±0.42	5.16±0.45
	238 mm	8.32±0.06	7.98±3.40	8.06±0.51	4.05±0.26	5.29±0.48	5.79±0.38
Folhas	950 mm	11.0±0.8	10.5±0.2	12.0±1.6	7.87±0.71	10.5±0.0	11.2±0.1
	475 mm	11.9±0.7	14.6±2.4	11.9±0.7	8.48±0.27	9.54±0.18	10.1±0.1
	238 mm	11.6±0.5	11.0±1.0	11.6±0.8	9.18±0.19	8.81±1.45	8.30±0.30
MM	950 mm	40.9±3.8	57.1±25.3	31.1±7.5	-	29.2±12.6	14.2±2.2
	475 mm	41.1±2.3	66.7±17.5	39.4±5.7	-	-	-
	238 mm	38.2±0.2	65.6±13.4	39.9±8.7	-	-	-
BNA	950 mm	-	37.8±10.4	42.3±10.5	-	11.4±2.6	-
	475 mm	-	53.1±23.4	-	-	41.4±13.2	-
	238 mm	-	56.4±28.2	-	-	27.7±8.6	13.7±2.0
Raízes	950 mm	-	-	-	84.1±5.1	71.8±7.7	59.3±1.4
	475 mm	-	-	-	77.3±3.1	67.9±4.7	65.0±0.0
	238 mm	-	-	-	87.0±4.4	72.8±5.9	66.2±5.9
Rizomas	950 mm	-	-	-	11.1±0.7	7.15±1.64	7.02±1.23
	475 mm	-	-	-	11.8±0.6	22.8±5.6	13.9±0.1
	238 mm	-	-	-	15.1±0.7	10.7±1.2	16.9±7.3



**Figura 6.39:** Teor de cinzas nos caules (%; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).



**Quadro 6.36** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas dos caules (%; matéria seca) na experiência de Cr.

Teor de cinzas dos caules (%; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição	ANOVA: factor duplo com repetição 2°
	1° Ano, Cr	Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0,3026	P = 0,2240
Tratamentos metálicos	P = 0,1060	P = 0,0008
Interacção	P = 0,3175	P = 0,1956

No caso das folhas (**Quadro 6.37**) observa-se que, com excepção da amostra CrI, a I2, 2° ano, onde ocorre o maior teor de cinzas de todos os ensaios (24.5%, matéria seca), as restantes amostras registam, todas, valores semelhantes nos valores para este parâmetro, embora para todas seja muito alto (quase sempre rondam os 10%). Os resultados da ANOVA traduzem essa uniformidade, pois nenhum dos factores de tensão, de forma isolada ou em interacção influenciam de forma estatisticamente significativa os resultados da experiência de Cr, no que concerne ao teor de cinzas das folhas. O teor de cinzas observado na biomassa de *A. donax* L. situa-se acima do valor apresentado por Pilu et al. (2012). Não se registaram diferenças estatisticamente significativas nos teores de cinzas dos rizomas, quer no que concerne aos níveis de fornecimento hídrico (P = 0.0628; ANOVA), tratamento com Cr (P = 0.8783; ANOVA) e interacção entre ambos (P = 0.1548; ANOVA).

**Quadro 6.37** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de cinzas das folhas (%; matéria seca) na experiência de Cr.

Teor de cinzas das folhas (%; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição 1°	ANOVA: factor duplo com repetição 2°
	Ano, Cr	Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0,2004	P = 0,3352
Tratamentos metálicos	P = 0,8352	P = 0,3604
Interacção	P = 0,3740	P = 0,4156

Nas raízes encontramos diferenças nos tratamentos com Cr (P = 0.0198; ANOVA) mas não nos regimes de fornecimento hídrico (P = 0.6284; ANOVA) e interacção entre factores (P = 0.8356; ANOVA). Nos tratamentos verificamos ainda que a amostra CrI não difere de forma estatisticamente significativa das restantes, mas que a amostra controlo e a amostra CrII diferem de forma estatisticamente significativa entre si. No que concerne à BNA, verifica-se que os teores de cinzas são muito elevados. O maior valor é registado no 1° ano, a I2, na amostra CrI.

### 6.4.3 Teores de zinco na biomassa

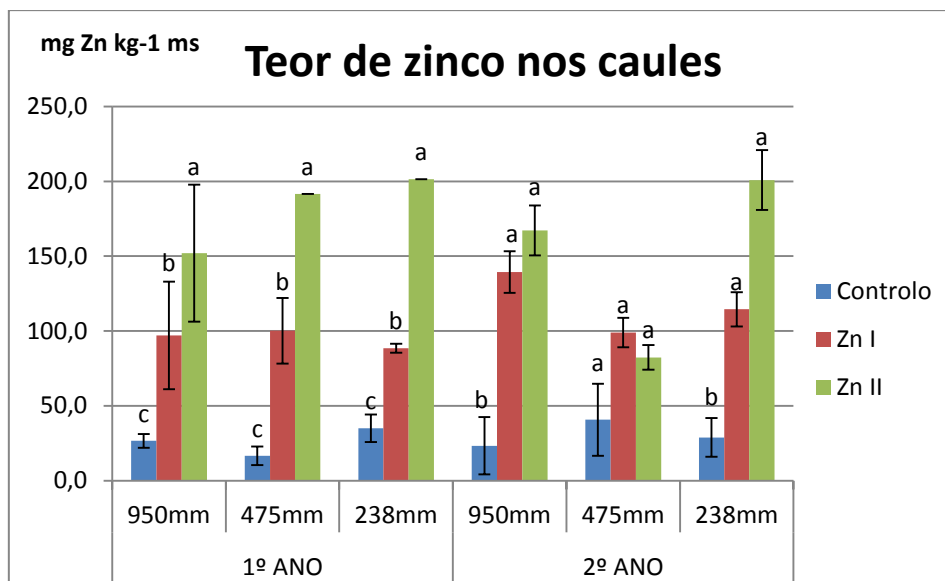
Os teores normais de zinco nas plantas são da ordem de 25-150 mg Zn.kg<sup>-1</sup> de matéria seca (Varennnes, 2003). Kabata-Pendias (2011) refere-se, contudo, a valores entre 6-126 mg Zn.kg<sup>-1</sup> de matéria seca para herbáceas e a valores de 1-73 mg Zn.kg<sup>-1</sup> de matéria seca para culturas

alimentares de diversos países do mundo. O **Quadro 6.38** apresenta os teores de zinco por fracção da biomassa de *A. donax* L., para os dois anos em que decorreu a experiência de Zn.

**Quadro 6.38** – Teores de zinco (mg Zn.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) nas diferentes componentes da biomassa de *A. donax* L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Zn.

Teor de zinco (mg Zn.kg <sup>-1</sup> , ms)		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
Caules	950 mm	26.7±4.6	97.1±35.9	152±46	23.4±19.1	139±14	167±17
	475 mm	16.7±6.3	100±22	191±12	40.8±24.1	99.0±9.9	82.4±5.2
	238 mm	35.0±9.2	89.0±3.1	201±25	28.9±12.9	115±12	201±10
Folhas	950 mm	31.6±4.3	41.0±12.2	53.9±2.6	23.5±6.2	46.5±4.7	74.5±6.5
	475 mm	16.5±8.3	29.6±1.5	90.1±45.0	16.3±8.3	44.5±5.5	48.4±4.8
	238 mm	28.2±0.2	39.8±0.4	58.3±29.1	25.8±0.0	80.4±9.0	50.8±6.4
MM	950 mm	82.5±2.0	60.3±4.3	942±892	-	-	-
	475 mm	76.3±0.3	51.8±1.9	128±16	-	-	-
	238 mm	243±90	81.6±2.5	398±342	-	-	-
BNA	950 mm	-	-	-	-	-	-
	475 mm	-	92.9±1.9	140±45.5	-	72±18	-
	238 mm	-	120±10	117±1	-	-	-
Raízes	950 mm	-	-	-	46.3±8.1	122±28	181±45
	475 mm	-	-	-	43.5±5.8	70.2±7.7	169±13
	238 mm	-	-	-	41.4±4.3	155±74	195±63
Rizomas	950 mm	-	-	-	16.7±2.7	74.0±19	96.7±14.2
	475 mm	-	-	-	21.5±4.9	65.6±1.7	136±47
	238 mm	-	-	-	25.5±2.0	142±10	87.0±14.8

O total de Zn na biomassa aérea obtida nos controlos situam-se no intervalo referido por Kabata-Pendias (2011) para culturas herbáceas e no intervalo referido por Varennes (2003). Os resultados obtidos para o teor de zinco dos caules estão representados na **Figura 6.40**. Para todos os regimes hídricos e em ambos os ciclos de crescimento foi registada a mesma tendência: menores teores de Zn nas amostras controlo (23-41 mg Zn.kg<sup>-1</sup>), seguida de teores crescentes com o aumento de maior contaminação nos solos. Assim, os caules de *A. donax* L. na experiência de Zn removeram mais Zn nas amostras com maior contaminação, em ambos os anos. Tal é reforçado com os valores obtidos na ANOVA no caso dos tratamentos com Zn ( $P = 3.0E-5$ ) do primeiro ano (**Quadro 6.39**). Os diferentes tratamentos da experiência de Zn no 1º ciclo de crescimento diferem de forma estatisticamente significativa entre si. Os fornecimentos hídricos e a interacção entre factores não influenciaram de forma estatisticamente significativa os resultados dos teores de zinco no 1º ano, mas no 2º ano, todos os factores de forma isolada ou interacção influenciaram de forma estatisticamente significativa os resultados obtidos nos teores de zinco dos caules na experiência de Zn. Os maiores teores de Zn da experiência são observados na amostra ZnII a 238 mm em ambos os anos.

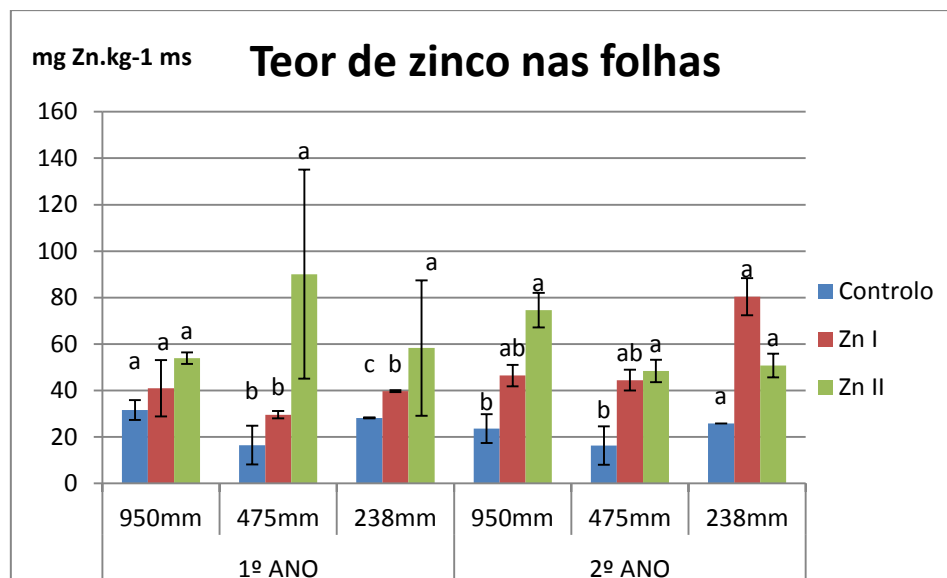


**Figura 6.40:** Teor de zinco nos caules (mg Zn.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

**Quadro 6.39** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Zn (mg Zn.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) dos caules na experiência de Zn.

Teor de cinzas dos caules (mg Zn.kg <sup>-1</sup> ; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	P = 0,5293	P = 0.0029
Tratamentos metálicos	P = 3.0E-5	P = 1.0E-6
Interação	P = 0,6432	P = 0.0016

Nas folhas (**Figura 6.41**), e no que concerne à experiência de Zn, observa-se que para o regime de fornecimento de água II ocorre uma tendência de acumulação de Zn crescente, das amostras controlo para as amostras ZnII, no 1º e 2º anos. A maior acumulação de Zn ocorre na amostra ZnII a I2, no 1º ano (90.1 mg Zn.kg<sup>-1</sup>), e na amostra ZnII a I1, no 2º. No que concerne aos factores de tensão testados, observa-se que, em ambos os anos, todos os factores, de forma isolada ou em interação entre si, influenciaram de forma estatisticamente significativa os resultados dos teores de Zn nas folhas (**Quadro 6.40**).



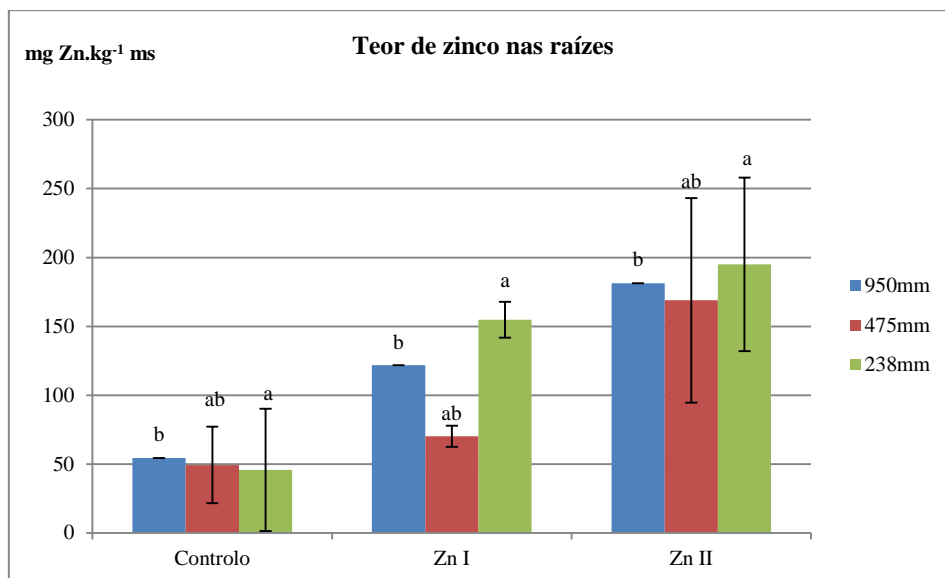
**Figura 6.41:** Teor de zinco nas folhas (mg Zn.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Para o nível de fornecimento hídrico mais elevado (II) não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes tratamentos, a I2, verifica-se que amostra ZnII difere de forma estatisticamente significativa de ZnI e da amostra controlo, mas que estas não diferem entre si (no 1º ano) (Figura 6.35). No segundo ano, a 238 mm não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

**Quadro 6.42** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Zn (mg Zn.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) das folhas na experiência de Zn.

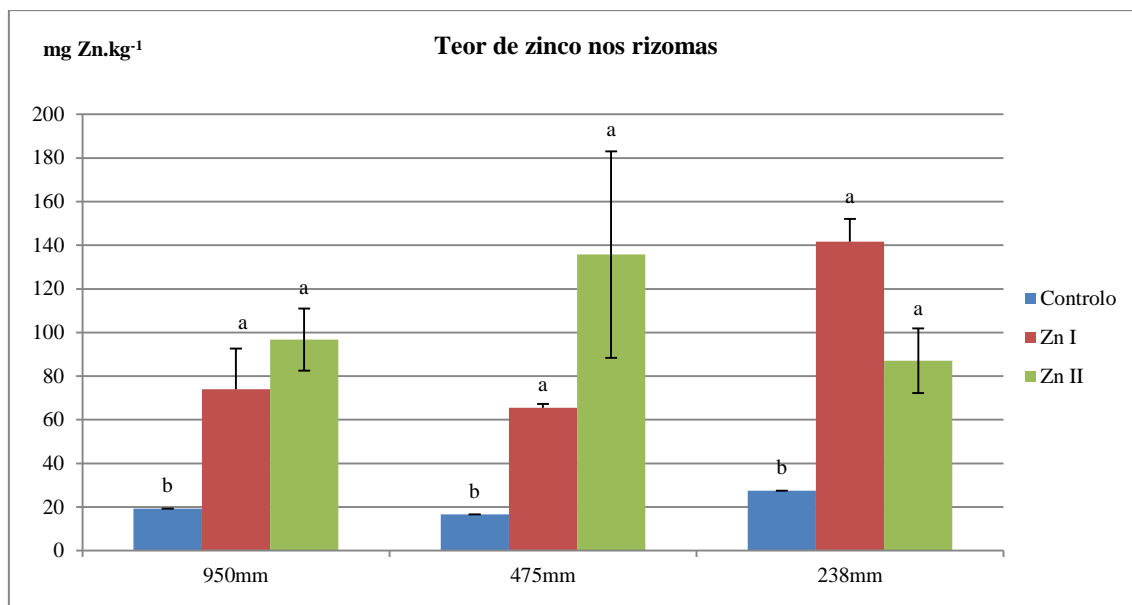
Teor de cinzas das folhas (mg Zn.kg <sup>-1</sup> ; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição	
	1º Ano, Zn	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Zn
Fornecimento de água	$P = 0,0048$	$P = 0,0001$
Tratamentos metálicos	$P = 2,0E-5$	$P = 3,0E-8$
Interação	$P = 0,0002$	$P = 1,0E-5$

Os valores elevados de teor de zinco de MM explicam-se pelo facto de esta biomassa ter estado em contacto com as lamas de Zn à superfície dos solos nos vasos, e de alguma forma sobrelevarem os reais valores de Zn nessa biomassa. Também a BNA apresenta valores elevados na sua composição (total e não de nenhuma fracção da biomassa dessas plantas em particular). A **Figura 6.42** e apresenta os resultados obtidos para o teor de zinco nas raízes.



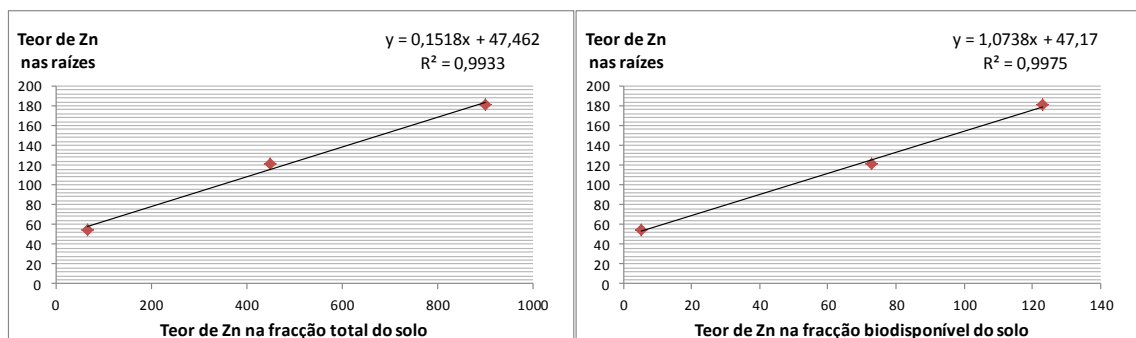
**Figura 6.42:** Teor de zinco nas raízes (mg Zn.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Nas raízes, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes regimes hídricos fornecidos ( $P = 0.5195$ ; ANOVA), nem na interação entre este factor e com os tratamentos com Zn ( $P = 0.8270$ ; ANOVA), mas verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos com esse metal ( $P < 0.05$ ; ANOVA). O tratamento ZnI não difere de forma estatisticamente significativa de ZnII nem da amostra controlo, mas estes dois tratamentos diferem de forma estatisticamente significativa entre si. A **Figura 6.43** apresenta os resultados obtidos para os rizomas, no que concerne ao teor de Zn. Tal como ocorrera ao nível das raízes, não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre regimes de fornecimento hídrico ( $P = 0.3875$ ; ANOVA) nem na interação entre factores ( $P = 0.0810$ ; ANOVA), tendo-se, contudo, registado esse tipo de diferenças entre diferentes tratamentos ( $P = 0.0007$ ; ANOVA). De facto, o controlo difere de forma estatisticamente significativa de ZnI e ZnII, mas estes dois tratamentos não diferem de forma estatisticamente significativa entre si.



**Figura 6.43:** Teor de zinco dos rizomas (mg Zn.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) registada na experiência de Zn. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

O **Quadro 6.41** apresenta os índices de correlação ( $R^2$ ) obtidos entre o teor de zinco (mg Zn.kg<sup>-1</sup>) em cada estrutura da planta com as concentrações de zinco da fracção total e da fracção biodisponível do solo (mg Zn.kg<sup>-1</sup>) (resultados nos solos a apresentar no capítulo 6.5). Da análise desses resultados percebe-se que o teor de zinco dos caules a 238 mm parece estar relacionado com a fracção total de zinco no solo, embora o valor de  $R^2$  decresça quando comparado com a fracção biodisponível. De todas as estruturas das plantas, as raízes são as que apresentam maiores índices de correlação com a fracção total de zinco do solo e com a fracção biodisponível de zinco. Nas correlações apresentadas, a tendência é de aumento do teor de Zn na biomassa com o aumento da contaminação de Zn no solo, quer a carga total quer a fracção biodisponível. A título exemplificativo apresenta-se na **Figura 6.44** a correlação entre contaminação total e biodisponível e o conteúdo de Zn na biomassa das raízes (a 950 mm).



**Figura 6.44:** Correlação entre contaminação total e biodisponível ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) e o conteúdo de Zn na biomassa das raízes ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) a 950 mm.

**Quadro 6.43** – Índices de correlação ( $R^2$ ) teor de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) em cada estrutura da planta com as concentrações de zinco da fracção total e da fracção biodisponível do solo ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ).

$R^2$ : $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ planta x $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ solo	Fracção total de Zn			Fracção biodisponível de Zn		
	950 mm	475 mm	238 mm	950 mm	475 mm	238 mm
Caules	0.8574	0.4353	0.9981	0.9364	0.0891	0.7764
Folhas	0.9999	0.8060	0.1722	0.9793	0.4124	0.0004
Raízes	0.9933	0.9053	0.9094	0.9975	0.9891	0.5311
Rizomas	0.9237	0.9968	0.2315	0.9783	0.8752	0.0028

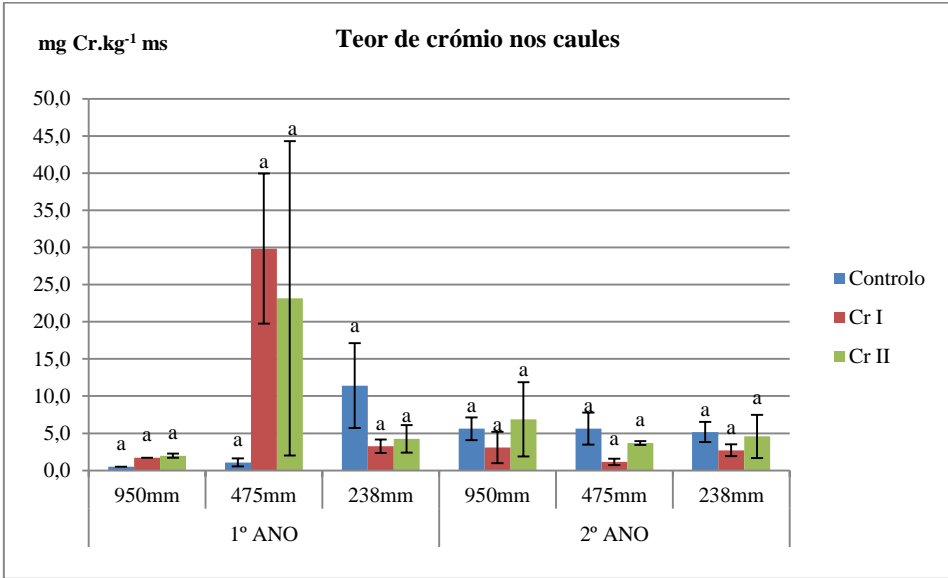
## 6.4.4 Teores de crómio na biomassa

O **Quadro 6.42** apresenta os teores de crómio por fracção da biomassa de *A. donax* L., para os dois anos em que decorreu a experiência de Cr.

**Quadro 6.42** – Teores de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) nas diferentes componentes da biomassa de *A. donax* L. nos dois ciclos de crescimento da cultura, na experiência de Cr.

Teor de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ms)		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
Caules	950 mm	0.50±0.03	1.70±0.07	1.98±0.27	5.60±1.54	3.08±2.10	6.87±4.98
	475 mm	1.10±0.53	29.8±10.1	23.2±21.2	5.60±2.16	1.14±0.42	3.70±0.26
	238 mm	11.4±5.7	3.25±0.90	4.26±1.85	5.20±1.36	2.72±0.78	4.59±2.91
Folhas	950 mm	0.08±0.05	2.73±3.64	47.9±21.3	1.70±0.85	6.36±3.67	16.9±6.43
	475 mm	0.40±0.22	11.9±9.65	16.1±8.03	1.60±1.37	22.9±0.38	81.7±17.3
	238 mm	1.50±0.77	11.8±4.49	10.1±5.53	1.40±1.40	17.7±8.26	14.2±0.53
MM	950 mm	15.1±0.7	1821±917	2302±908	10.5±4.77	-	-
	475 mm	16.5±1.47	1295±527	3145±1045	-	-	-
	238 mm	8.40±2.61	1466±328	1565±218	-	-	-
BNA	950 mm	-	1854±28	951±78	-	27.5±3.8	-
	475 mm	-	487±18	-	-	56.0±2.8	-
	238 mm	-	937±88	-	-	40.4±8.3	140±23
Raízes	950 mm	-	-	-	18.2±2.40	71.3±33.7	110±58
	475 mm	-	-	-	19.4±2.82	61.7±38.6	20.1±3.9
	238 mm	-	-	-	21.0±3.36	20.7±3.32	21.5±2.0
Rizomas	950 mm	-	-	-	2.27±0.87	17.9±13.1	15.3±6.2
	475 mm	-	-	-	0.10±0.00	26.2±5.25	20.8±16.9
	238 mm	-	-	-	1.30±0.40	18.0±2.82	44.8±23.3

Ao nível dos caules não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes amostras no que concerne aos teores de Cr, quer nos diferentes tratamentos, regimes de fornecimento hídrico ou na interação entre ambos (**Figura 6.45** e **Quadro 6.43**).



**Figura 6.45:** Teor de crómio nos caules (mg Cr.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

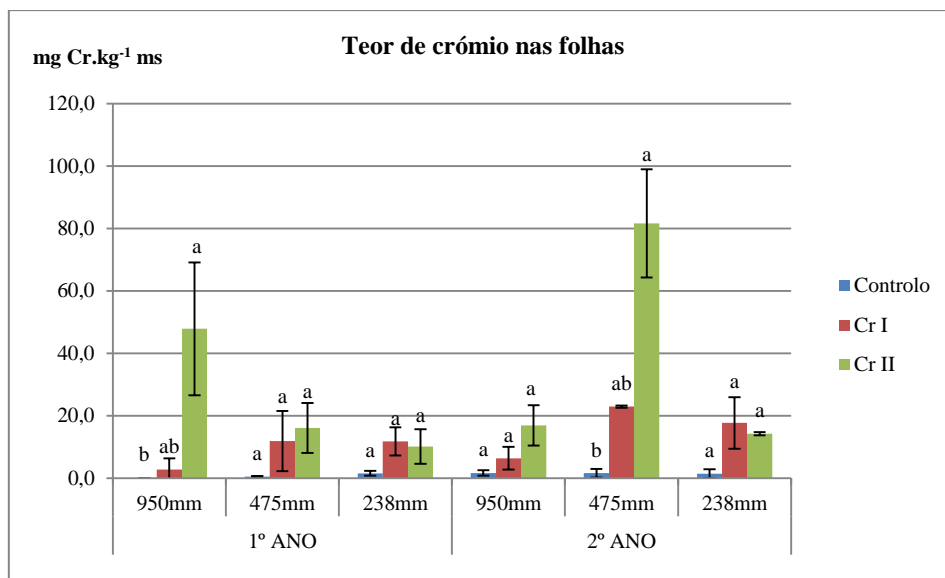
Apesar disso, observa-se que os teores de crómio dos caules das amostras ZnI e ZnII a I2, no 1º ano apresentam valores nos conteúdos deste elemento bastante superiores a todas as outras amostras. Os caules das amostras controlo a 238 mm apresentaram teores de Cr mais elevados que as nas amostras contaminadas com esse metal. Verifica-se uma tendência para o aumento de Cr com a contaminação, no entanto, como se pode verificar, essa tendência não tem significado estatístico.

**Quadro 6.43** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Cr (mg Cr.kg<sup>-1</sup>; matéria seca) nos caules na experiência de Cr.

Teor crómio nos caules (mg Cr.kg <sup>-1</sup> ; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição	ANOVA: factor duplo com repetição 2º
	1º Ano, Cr	Ano, Cr
Fornecimento de água	P = 0.0725	P = 0.2892
Tratamentos metálicos	P = 0.5223	P = 0.2253
Interação	P = 0.2426	P = 0.7477

Nas folhas (**Figura 6.46** e **Quadro 6.44**) verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre regimes de fornecimento hídrico e interação de factores no 1º ano, e entre todos os factores de forma isolada e em interação no 2º.





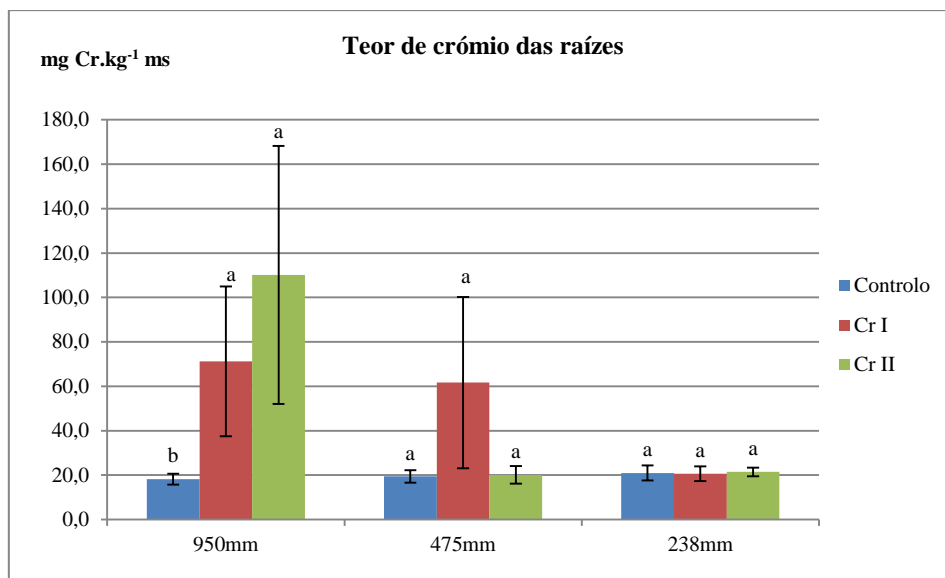
**Figura 6.45:** Teor de crómio nas folhas ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

**Quadro 6.46** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para o teor de Cr ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) nas folhas na experiência de Cr.

Teor de crómio nas folhas ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca)	ANOVA: factor duplo com repetição 1º Ano, Cr	ANOVA: factor duplo com repetição 2º Ano, Cr
Fornecimento de água	$P = 0.1373$	$P = 0.0024$
Tratamentos metálicos	$P = 0.0043$	$P = 0.0004$
Interacção	$P = 0.0446$	$P = 0.0035$

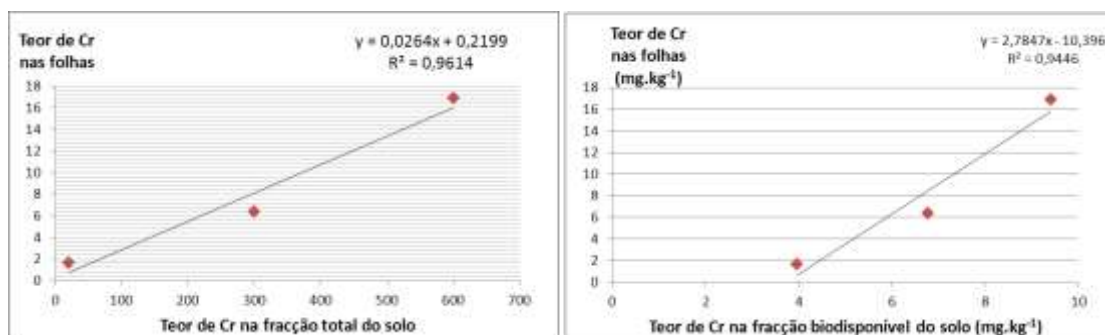
Não se verificam diferenças entre os diferentes tratamentos no primeiro ano a I2 e I3, nem no segundo ano a I1 e I3. Mas no primeiro ano a I1 e no 2º ano a I2, há uma aumento significativo de Cr nas folhas com a contaminação no solo.

No que concerne aos teores de Cr nas raízes (**Figura 6.47**) registam-se diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos ( $P = 0.0007$ ; ANOVA), regimes de fornecimento hídricos ( $P = 0.0085$ ; ANOVA), e na interacção entre ambos factores ( $P = 0.0057$ ; ANOVA). No entanto, as diferenças significativas verificam-se apenas a 950mm. O maior teor de crómio nas raízes é registado nesse nível de fornecimento hídrico para a amostra CrII ( $110.2 \text{ mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca). A 950 mm há um aumento de Cr com a contaminação, a 475 mm tb se verifica um aumento com a contaminação, mas aqui não há uma relação com o teor no solo. A 238mm não há diferenças entre contaminações. A redução da água disponibilizada pela rega implicou uma redução na acumulação de Cr pela biomassa.



**Figura 6.46:** Teor de crómio nas raízes ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ; matéria seca) registada na experiência de Cr. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

Ao nível dos rizomas também foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos tratamentos ( $P = 0.0266$ ; ANOVA) no que concerne aos teores de Cr, não sendo registadas esse tipo de diferenças nos regimes de fornecimento hídrico ( $P = 0.7242$ ; ANOVA), nem na interação entre factores ( $P = 0.5759$ ; ANOVA). A contaminação conduz então a um aumento significativo de Cr em todos os regimes hídricos. Tal como se verificara ao nível das raízes, também a amostra CrII a I1 apresenta o maior valor de teor de Cr dos ensaios para esta fracção da planta. O **Quadro 6.45** apresenta os Índices de correlação ( $R^2$ ) teor de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) em cada estrutura da planta com as concentrações de crómio da fracção total e da fracção biodisponível do solo ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ). As folhas (**Figura 6.47**) apresentam índices de correlação superiores sobretudo a I1 e I2.



**Figura 6.47:** Correlação entre contaminação total e biodisponível ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) e o conteúdo de Cr na biomassa das folhas ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) a 950 mm.

**Quadro 6.45** – Índices de correlação ( $R^2$ ) teor de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) em cada estrutura da planta com as concentrações de crómio da fracção total e da fracção biodisponível do solo ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ).

$R^2$ : $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ planta x $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ solo	Fracção total de Cr			Fracção biodisponível de Cr		
	950 mm	475 mm	238 mm	950 mm	475 mm	238 mm
Caules	0.1198	0.1692	0.0428	0.9006	0.5693	0.1492
Folhas	0.9614	0.9419	0.5382	0.9998	0.9000	0.4174
Raízes	0.9883	3.0E-5	0.4130	0.9998	0.8130	0.0181
Rizomas	0.6071	0.5421	0.9868	0.9551	0.9641	0.3456

### 6.4.5 Absorção de outros elementos na biomassa de *Arundo donax* L.

Neste ponto apresentam-se os teores de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Mn e Fe para as plantas desenvolvidas nos ensaios em solos contaminados com Zn e em solos contaminados com Cr apresentando-se os resultados de índices de correlação para alguns desses elementos com o Zn e com o Cr.

#### 6.4.5.1 Experiência de zinco

O **Quadro 6.46** apresenta os teores de vários elementos na biomassa de caules da experiência de zinco. Estudaram-se algumas relações entre os teores desses elementos para os nossos resultados dos caules. Os teores de zinco apresentam elevados índices de correlação ( $R^2$ ) com os teores de P a ( $R^2 = 0.8615$ ), Mn ( $R^2 = 0.9380$ ), N ( $R^2 = 1$ ) a 950 mm de fornecimento hídrico, ainda a 238 mm com os teores de N ( $R^2 = 0.9475$ ) e a todos os regimes de fornecimento hídrico com o Fe ( $R^2 = 0.9797$  em I1;  $R^2 = 0.7853$  em I2; e,  $R^2 = 0.9428$  em I3). De facto, Davies e Jones (1992) referem-se ao facto do antagonismo existente entre o Fe e Zn como podendo provocar carências na incorporação de Fe em solos contaminados com Cu, Zn e Ni. Essa tendência é registada nos nossos dados. Também Varennes (2003) se refere ao facto do excesso de zinco no solo poder interferir com o uso do Fe por várias proteínas como os citocromos e a aconitase, substituindo o Mn no fotossistema II, podendo originar sintomas de deficiência de Fe e Mn. Kabata-Pendias (2011) referem-se a sinergismos existentes entre Zn e Cu, e a antagonismos existentes entre Zn e Mn e entre Zn e Fe. Encontramos evidências do sinergismo com o Cu a 950 mm nos caules ( $R^2 = 0.9869$ ). Davies e Jones (1992) referem-se ainda ao facto de adições azotadas (sobretudo em doses elevadas) poder induzir um aumento da velocidade de crescimento da planta e, por consequência, induzirem a demandas de Zn que poderão ser superiores à capacidade de fornecimento por parte do solo, facto que de alguma forma pode justificar os resultados elevados do valor de  $R^2$  obtido a 950 mm nos caules.

**Quadro 6.48** – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nos caules na experiência de Zn.

CAULES		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
N (%)	950 mm	0.41±0.02	0.55±0.15	0.39±0.10	0.16±0.01	0.43±0.00	0.49±0.00
	475 mm	0.57±0.12	0.64±0.02	0.43±0.03	0.40±0.02	0.37±0.00	0.44±0.00
	238 mm	0.70±0.02	0.54±0.05	0.70±0.35	0.46±0.02	0.98±0.00	1.21±0.00
P (%)	950 mm	0.08±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01	0.08±0.02	0.17±0.08	0.13±0.07
	475 mm	0.08±0.01	0.08±0.04	0.04±0.02	0.08±0.01	0.09±0.04	0.09±0.04
	238 mm	0.12±0.03	0.05±0.01	0.08±0.04	0.12±0.03	0.06±0.03	0.12±0.06
K (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	11796±125	10367±408	8440±146	11872±4714	21222±256	24968±652
	475 mm	17605±3357	13046±218	5357±268	13243±595	25492±2580	15882±589
	238 mm	19655±4139	10303±552	7101±355	23485±5953	26418±2698	26558±456
Ca (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	2850±89	12933±137	5455±2201	1984±1409	4330±21.7	4892±245
	475 mm	2740±246	2392±228	1987±229	3106±2053	4706±235	5376±269
	238 mm	7304±1226	2800±873	2091±1045	3414±2136	7320±366	1135±563
Mg (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	800±36.3	1940±546	2179±447	831±412	2486±252	2255±256
	475 mm	1047±12.2	2838±108	1976±988	1513±539	2541±198	2295±562
	238 mm	1434±80.6	2342±468	2885±1443	2064±141	3778±325	4994±658
Na (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	1075±85	935±111	884±276	554±155	305±31.2	974±85.3
	475 mm	797±127	1948±546	652±252	574±11.9	439±41.3	301±26.3
	238 mm	1388±295	965±213	660±69	541±267	447±52.3	1222±125.3
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	2.83±0.57	2.8±0.7	3.6±0.96	2.94±1.42	4.38±0.25	4.52±0.59
	475 mm	5.39±1.11	3.7±1.3	2.60±1.30	3.99±0.74	7.2±0.58	3.75±0.58
	238 mm	9.16±2.69	2.3±0.1	3.16±1.58	5.48±1.11	4.1±0.36	5.88±0.89
Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	3.33±0.71	4.6±2.9	4.72±2.32	6.34±3.54	4.0±0.48	4.18±0.47
	475 mm	3.84±0.16	5.8±2.1	9.13±0.12	7.64±1.86	7.51±0.78	5.95±0.69
	238 mm	6.67±0.87	5.5±1.5	11.2±0.18	10.4±2.18	8.69±0.81	12.5±0.13
Fe (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	24.9±1.9	71.9±30.9	79.6±47.6	159±119	45.1±0.59	39.7±0.48
	475 mm	58.9±5.5	58.0±7.48	45.5±0.09	123±77.0	46.0±0.54	25.5±0.29
	238 mm	249±69	48.9±0.85	59.3±29.6	156±74.6	109±1.23	89.2±0.75

Os resultados obtidos nesta análise, mas nas folhas, apontam também nesse sentido. O **Quadro 6.49** apresenta os teores de vários elementos na biomassa de folhas na experiência de zinco.

**Quadro 6.49** – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas folhas na experiência de Zn.

FOLHAS		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
N (%)	950 mm	1.12±0.08	1.67±0.52	1.30±0.06	1.59±0.01	1.11±0.02	0.74±0.01
	475 mm	1.51±0.34	1.24±0.17	1.23±0.05	1.41±0.10	0.82±0.01	0.78±0.01
	238 mm	2.00±0.15	1.37±0.08	1.61±0.01	2.07±0.12	0.94±0.02	1.14±0.04
P (%)	950 mm	0.10±0.01	0.09±0.03	0.14±0.07	0.10±0.01	0.09±0.01	0.05±0.05
	475 mm	0.10±0.02	0.07±0.02	0.08±0.01	0.10±0.02	0.06±0.01	0.05±0.05
	238 mm	0.12±0.01	0.07±0.01	0.11±0.01	0.12±0.02	0.05±0.01	0.02±0.01
K (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	12692±321	25374±2134	29720±1873	22507±4147	30001±523	29332±1020
	475 mm	17898±3421	19660±1585	28878±578	11227±8791	25581±284	24768±252
	238 mm	11959±3479	18685±4353	24599±4955	11203±3253	28019±0.06	42336±442
Ca (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	3067±0.00	4128±149	7875±766	2854±2048	1930±966	2007±100
	475 mm	2785±248	7809±2087	8382±1776	785±107	1697±845	1960±982
	238 mm	4428±1106	5384±1257	7018±1110	2387±1214	1968±705	3145±157
Mg (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	861±13	3495±281	3918±56	1623±1224	3542±369	3632±369
	475 mm	1065±12	4571±211	4525±742	708±683	3352±286	3596±298
	238 mm	861±122	3858±145	4089±275	1350±226	3623±328	5097±489
Na (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	1156±115	1275±32.4	1256±991	525±242	1619±162	911±95
	475 mm	810±129	2517±178	2937±257	350±132	1753±185	1576±159
	238 mm	845±247	2977±362	3321±320	326±9.23	925±96	1915±189
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	7.9±3.97	7.7±0.60	5.21±0.37	5.02±0.89	9.0±0.9	8.59±0.95
	475 mm	7.1±3.56	7.3±1.62	3.77±1.89	5.54±2.52	6.6±0.69	9.19±0.928
	238 mm	4.6±2.31	8.2±4.56	4.53±2.26	5.27±1.16	5.9±0.62	9.85±0.102
Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	3.6±0.2	17.0±1.76	23.0±2.82	13.4±0.20	19.5±1.83	21.4±2.58
	475 mm	3.9±0.2	17.8±1.09	34.9±8.48	3.75±0.24	21.4±2.09	25.1±2.64
	238 mm	3.9±0.3	20.2±2.54	31.2±1.14	13.4±5.41	30.7±2.98	44.7±3.97
Fe (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	26.8±2.7	123±7.4	260±26.3	-	211±0.25	230±2.40
	475 mm	59.9±5.6	138±2.8	164±7.22	53.9±23.0	131±1.50	266±2.36
	238 mm	145±28.7	174±18	190±0.17	248±203	201±2.06	354±0.26

Não encontramos grandes evidências de antagonismo entre os teores de P e os teores de Zn nos caules, mas a 950 mm encontramos a existência de um  $R^2$  elevado ( $R^2 = 0.9586$ ) nas folhas. Também nesta componente da planta verificamos que os teores de zinco apresentam elevados índices de correlação ( $R^2$ ) com os teores de Mn ( $R^2 = 0.8851$  a I1,  $R^2 = 0.9979$  a I2), Fe ( $R^2 = 0.7624$  a I1,  $R^2 = 0.7106$  a I2) e N ( $R^2 = 0.9850$  a I1,  $R^2 = 0.9975$  a I2, e  $R^2 = 0.8440$  a I3). O **Quadro 6.50** apresenta os teores de vários elementos na biomassa de raízes e rizomas na experiência de zinco.

**Quadro 6.50** – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas raízes e rizomas na experiência de Zn.

RAÍZES E RIZOMAS		RAÍZES			RIZOMAS		
		Controlo	Zn I	Zn II	Controlo	Zn I	Zn II
N (%)	950 mm	0.10±0.01	0.26±0.01	0.21±0.02	0.50±0.02	0.52±0.12	1.14±0.00
	475 mm	0.11±0.01	0.34±0.05	0.24±0.05	0.90±0.06	0.54±0.02	1.20±0.11
	238 mm	0.20±0.01	0.35±0.03	0.39±0.02	1.10±0.08	1.00±0.31	1.27±0.09
P (%)	950 mm	0.04±0.02	0.07±0.01	0.03±0.01	0.07±0.01	0.19±0.02	0.08±0.01
	475 mm	0.04±0.01	0.07±0.01	0.04±0.02	0.08±0.02	0.11±0.04	0.08±0.04
	238 mm	0.03±0.01	0.09±0.04	0.04±0.02	0.18±0.03	0.19±0.09	0.06±0.01
K (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	6855±440	23866±11100	14624±2386	17532±5796	42450±350	45121±1869
	475 mm	6228±1648	13380±4366	18654±586	33450±15630	37510±3881	43194±270
	238 mm	6054±1842	5226±1732	10006±4880	23010±6706	35784±6474	41102±202
Ca (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	8600±2424	7491±0.4	8085±98.4	2016±202	2272±322	2079±240
	475 mm	7398±1810	6928±274	6635±164	2138±255	2149±117	5890±644
	238 mm	4976±612	7644±554	8086±50.0	3558±463	7828±2398	5671±1103
Mg (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	4138±1020	1972±42.1	1997±3.0	602±40	993±41	1290±18
	475 mm	3802±844	1755±3.1	1988±58.1	1796±422	1541±346	1216±121
	238 mm	3368±438	2019±70.5	2135±31.7	1406±68	1940±17	1497±172
Na (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	430±83.5	1103±436	2055±1349	385±232	540±499	520±93
	475 mm	377±55.6	896±202	1344±234	462±13.3	440±73	688±55
	238 mm	334±43.6	629±79.7	1085±449	934±156	531±149	629±54
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	6.5±0.62	4.36±0.51	4.1±1.2	4.4±2.21	4.35±0.58	4.2±1.2
	475 mm	4.5±0.33	3.56±0.86	5.9±1.9	5.0±2.5	3.08±0.69	6.3±1.7
	238 mm	5.55±0.54	3.6±0.25	6.4±0.98	5.7±2.8	3.6±0.87	6.9±0.36
Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	51.4±8.0	36.8±2.64	42.7±3.09	6.23±1.32	10.1±2.2	9.49±1.36
	475 mm	47.0±6.8	28.3±2.41	31.7±2.66	7.78±3.9	4.90±0.66	22.1±3.98
	238 mm	46.7±6.7	29.3±2.79	40.6±3.74	12.4±1.4	36.9±18.5	9.38±1.27
Fe (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	11676±1956	3591±42.6	3569±96.3	1024±12.8	846±167	780±108
	475 mm	10701±1690	3294±56.9	3408±25.0	928±26.9	732±13.1	2019±220
	238 mm	10628±1053	3184±305	3570±29.7	1543±218	2920±651	944±50.0

Observamos que os teores de zinco apresentam elevados índices de correlação ( $R^2$ ) com os teores de Cu nas raízes a I2 ( $R^2 = 0.9717$ ) e nos rizomas a I3 ( $R^2 = 0.9768$ ), com os teores de Mn nos rizomas a 950 mm ( $R^2 = 0.8846$ ), com os teores de Fe ao nível das raízes ( $R^2 = 0.7820$  a I1, e  $R^2 = 0.9067$  a I3), e ainda com os teores de N ao nível das raízes ( $R^2 = 0.9964$ ) a 238 mm. Em relação ao Fe, verifica-se que ficou acumulado sobretudo ao nível das raízes (note-se que muito deste ferro é de contaminação com solo), não tendo quase acumulado ao nível dos rizomas e componentes aéreas. Em relação aos controlos, a absorção de Fe foi sempre inferior nas amostras contaminadas com Zn.

### 6.4.5.1 Experiência de crômio

Na experiência do crômio, investigamos sobretudo as relações de antagonismo entre o Cr e o Mn e entre o Cr e o Fe, mas também as de possível antagonismo existentes entre o Cr e o Cu, referidas por Kabata-Pendias (2011). Os **Quadros 6.51** e **6.52** apresentam os teores de vários elementos na biomassa de caules e folhas na experiência de crômio, respectivamente. Ao nível dos caules observamos que os teores de crômio apresentam elevados índices de correlação ( $R^2$ ) com os teores de Cu ( $R^2 = 0.8143$  a I2,  $R^2 = 0.9420$  a I3) e Fe ( $R^2 = 0.9858$  a I2).

**Quadro 6.51** – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nos caules na experiência de Cr.

CAULES		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
N (%)	0.41±0.02	0.41±0.21	0.17±0.23	1.10±0.74	0.16±0.01	0.52±0.08	0.86±0.17
	0.57±0.12	0.57±0.12	1.10±0.26	1.62±0.76	0.40±0.02	0.76±0.05	0.71±0.35
	0.70±0.02	0.70±0.02	1.02±0.33	1.36±0.41	0.46±0.02	0.65±0.04	0.65±0.02
P (%)	0.08±0.01	0.10±0.04	0.06±0.02	0.26±0.11	0.08±0.02	0.09±0.01	0.14±0.07
	0.08±0.01	0.10±0.01	0.15±0.08	0.18±0.11	0.08±0.01	0.09±0.01	0.06±0.01
	0.12±0.03	0.10±0.03	0.16±0.07	0.11±0.04	0.12±0.03	0.05±0.01	0.07±0.01
K (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	11796±125	11796±0.00	3172±423	17253±767	11872±4714	18560±4349	29520±5564
	17605±3357	17605±3357	11981±488	9720±223	13243±595	23282±7418	17480±2955
	19655±4139	19655±4139	7035±6301	12333±226	23485±5953	20100±1278	25880±373
Ca (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	2850±89	2850±0.00	2021±0.00	2662±1183	1984±1409	63.4±6.71	89.9±7.34
	2740±246	2740±246	3478±299	3089±701	3106±2053	68.9±9.69	82.7±6.67
	7304±1226	7304±1226	3115±819	2963±386	3414±2136	130±63.5	77.3±2.72
Mg (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	800±36.3	800±0.01	623±831	1935±860	831±412	26825±6518	34910±3886
	1047±12.2	1047±12.2	3049±82.3	2476±460	1513±539	27432±1085	33997±3749
	1434±80.6	1434±80.6	2832±633	2487±58.6	2064±141	34486±7287	34558±5877
Na (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	1075±85	1075±85	127±18.3	1216±115	554±155	788±265	1278±334
	797±127	797±127	1757±789	1529±212	574±11.9	992±121	1330±178
	1388±295	1388±295	1480±413	124±10.1	541±267	709±353	844±29.7
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	2.83±0.57	2.8±1.4	1.17±1.55	5.49±2.44	2.94±1.42	3.69±0.56	4.92±0.88
	5.39±1.11	4.3±2.1	7.51±1.95	7.90±1.55	3.99±0.74	6.36±0.09	3.98±0.60
	9.16±2.69	11.8±5.9	3.73±1.37	4.93±0.71	5.48±1.11	113±109	3.58±0.36
Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	3.33±0.71	3.3±0.36	5.39±0.58	8.07±3.59	6.34±3.54	3.07±0.37	4.94±2.28
	3.84±0.16	3.8±0.2	14.4±9.69	15.7±2.26	7.64±1.86	5.19±0.85	4.12±1.32
	6.67±0.87	6.7±0.9	12.5±4.48	12.6±1.16	10.4±2.18	5.089±1.23	4.88±0.02
Fe (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	24.9±1.9	24.9±0.29	12.6±16.8	164±72.9	159±119	79.3±24.7	87.2±14.8
	58.9±5.5	58.9±5.5	239±73.7	97.3±11.8	123±77.0	75.7±9.66	108±28.7
	249±69	249±69.3	70.1±10.3	56.1±11.9	156±74.6	103±53.3	64.7±1.83

Ao nível das folhas observamos que os teores de crômio apresentam elevados índices de correlação ( $R^2$ ) com os teores de Cu ( $R^2 = 0.9620$  a I3) e Fe ( $R^2 = 0.8946$  a I2, e  $R^2 = 0.9783$  a I3) ao nível das folhas. O **Quadro 6.53** apresenta os teores de vários elementos na biomassa de raízes e rizomas, na experiência de Cr. Registamos índices de correlação ( $R^2$ ) dos teores de zinco com os teores de Mn ao nível das raízes ( $R^2 = 0.8798$  a I1) e ao nível dos rizomas em todos os regimes de fornecimento hídrico ( $R^2 = 0.8266$  a I1,  $R^2 = 0.9535$  a I2, e  $R^2 = 0.7713$  a I3) o que vem de encontro à informação de existência de antagonismo entre ambos os metais, referida atrás.

**Quadro 6.52** – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas folhas na experiência de Cr.

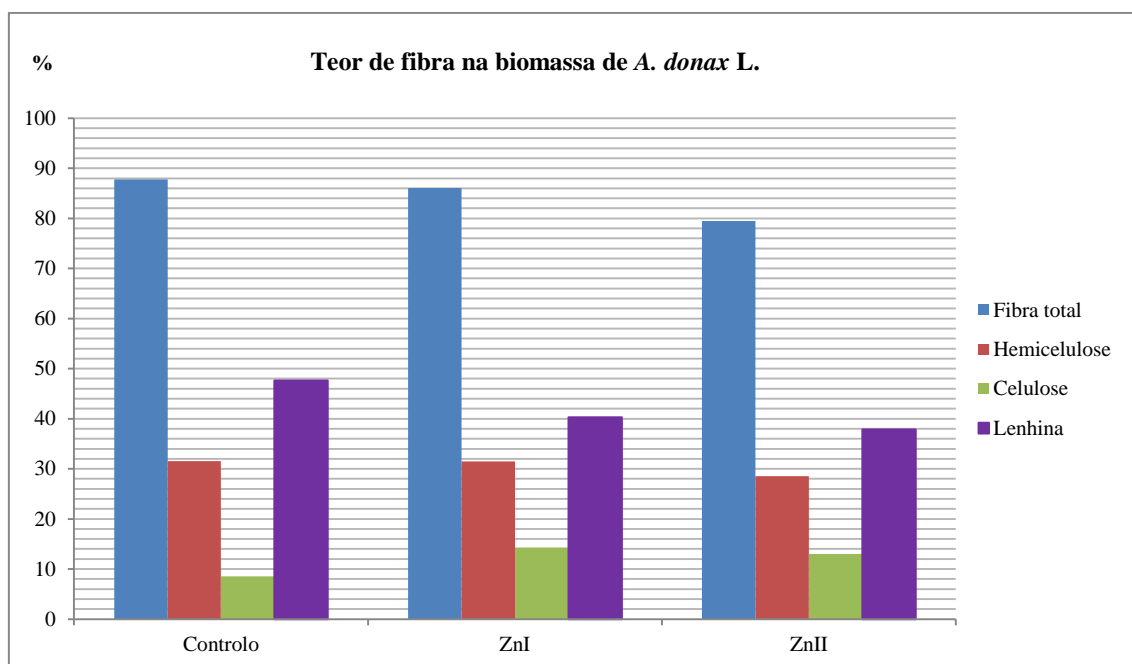
FOLHAS		1º Ano			2º Ano		
		Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
N (%)	950 mm	1.12±0.08	1.39±0.62	1.90±0.85	1.59±0.01	1.09±0.24	1.36±0.14
	475 mm	1.51±0.34	2.25±0.02	2.48±0.20	1.41±0.10	1.37±0.15	1.47±0.13
	238 mm	2.00±0.15	1.10±0.84	2.64±1.32	2.07±0.12	2.11±0.06	2.38±0.62
P (%)	950 mm	0.10±0.01	0.079±0.04	0.12±0.06	0.10±0.01	0.05±0.02	0.05±0.01
	475 mm	0.10±0.02	0.16±0.01	0.14±0.01	0.10±0.02	0.08±0.02	0.04±0.03
	238 mm	0.12±0.01	0.20±0.11	0.15±0.08	0.12±0.02	0.10±0.01	0.10±0.02
K (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	12692±321	11662±5494	24982±7469	22507±4147	18608±1235	22038±2178
	475 mm	17898±3421	24448±9761	51136±29962	11227±8791	14623±3286	16308±1114
	238 mm	11959±3479	40975±3202	28308±7494	11203±3253	16667±1069	44068±7233
Ca (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	3067±0.00	3856±2571	4389±1951	2854±2048	17.3±4.77	21.6±4.85
	475 mm	2785±248	7796±4898	6094±201	785±107	13.5±3.24	20.0±0.52
	238 mm	4428±1106	4776±5879	6519±917	2387±1214	11.7±1.83	31.2±1.66
Mg (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	861±13	3519±648	2986±656	1623±1224	3149±720	2370±1443
	475 mm	1065±12	2788±112	4221±389	708±683	2659±207	3303±398
	238 mm	861±122	3656±1162	4496±114	1350±226	2512±618	2686±465
Na (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	1156±115	3044±583	3780±1019	525±242	1013±171	702±341
	475 mm	810±129	1465±207	3530±92.7	350±132	731±98.8	1042±287
	238 mm	845±247	1704±474	2942±416	326±9.23	557±59.1	881±332
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	7.9±3.97	1.41±1.88	9.71±4.32	5.02±0.89	8.51±4.25	8.34±4.85
	475 mm	7.1±3.56	7.97±1.07	9.25±1.23	5.54±2.52	11.6±2.64	8.65±0.11
	238 mm	4.6±2.31	4.91±0.32	6.42±0.01	5.27±1.16	7.51±0.42	7.49±1.20
Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	3.6±0.2	20.8±16.6	20.8±9.25	13.4±0.20	8.82±2.71	12.0±2.24
	475 mm	3.9±0.2	14.1±4.64	25.1±5.32	3.75±0.24	14.0±1.57	15.8±1.48
	238 mm	3.9±0.3	21.9±9.46	22.0±2.64	13.4±5.41	13.8±2.49	13.2±0.27
Fe (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	26.8±2.7	78.7±52.4	298±132	-	146±42.7	195±57.2
	475 mm	59.9±5.6	402±203	112±10.5	53.9±23.0	217±52.6	347±96.3
	238 mm	145±28.7	-	116±30.2	248±203	230±74.0	231±16.0

**Quadro 6.53** – Teor de N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Fe e Mn nas raízes e rizomas na experiência de Cr.

RAÍZES E RIZOMAS		RAÍZES			RIZOMAS		
		Controlo	Cr I	Cr II	Controlo	Cr I	Cr II
N (%)	950 mm	0.10±0.01	0.26±0.03	0.63±0.07	0.50±0.02	0.81±0.45	0.75±0.36
	475 mm	0.11±0.01	0.41±0.02	0.44±0.05	0.90±0.06	2.04±0.07	2.03±0.28
	238 mm	0.20±0.01	0.31±0.01	0.38±0.02	1.10±0.08	1.10±0.37	1.12±0.10
P (%)	950 mm	0.04±0.02	0.03±0.01	0.03±0.01	0.07±0.01	0.04±0.02	0.07±0.03
	475 mm	0.04±0.01	0.04±0.02	0.04±0.01	0.08±0.02	0.10±0.05	0.08±0.01
	238 mm	0.03±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.18±0.03	0.05±0.02	0.05±0.021
K (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	6855±440	38329±17596	23889±3644	17532±5796	8586±2048	4277±926
	475 mm	6228±1648	74164±38658	30532±8930	33450±15630	4218±225	5436±1960
	238 mm	6054±1842	92546±27800	96464±17310	23010±6706	7220±1141	5834±1067
Ca (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	8600±2424	9817±908	10141±830	2016±202	2547±517	2447±919
	475 mm	7398±1810	8884±488	8357±73.2	2138±255	4693±734	3276±284
	238 mm	4976±612	8781±852	9209±57.8	3558±463	1824±30.8	4003±587
Mg (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	4138±1020	2365±293	2348±325	602±40	1761±561	1507±118
	475 mm	3802±844	1979±188	1814±49.5	1796±422	1636±208	1856±143
	238 mm	3368±438	2280±177	2140±124	1406±68	1346±226	2101±60.9
Na (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	430±83.5	1598±629	2283±615	385±232	87±35.7	108±74.4
	475 mm	377±55.6	880±118	1853±117	462±13.3	97±10	87±44.3
	238 mm	334±43.6	515±96.7	1116±317	934±156	170±3.7	147±0.51
Cu (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	6.5±0.62	6.22±0.72	3.99±0.89	4.4±2.21	6.52±0.69	4.06±0.12
	475 mm	4.5±0.33	4.81±1.18	6.74±0.11	5.0±2.5	4.11±0.97	5.96±0.66
	238 mm	5.55±0.54	4.06±1.23	2.72±0.56	5.7±2.8	3.98±1.29	1.97±0.81
Mn (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	51.4±8.0	32.2±3.74	30.0±1.59	6.23±1.32	8.13±3.42	7.00±2.36
	475 mm	47.0±6.8	31.9±2.64	32.2±2.82	7.78±3.9	9.67±2.90	27.1±12.4
	238 mm	46.7±6.7	32.1±2.41	28.0±1.00	12.4±1.4	7.48±0.65	3.63±0.61
Fe (mg.kg <sup>-1</sup> ;ms)	950 mm	11676±1956	3385±108	3406±94.3	1024±12.8	797±483	648±359
	475 mm	10701±1690	3438±33.5	3457±144	928±26.9	1105±401	1139±577
	238 mm	10628±1053	3481±47.7	3366±41.9	1543±218	609±20.4	867±515

### 6.4.6 Teores de celulose, lenhina e hemicelulose na biomassa

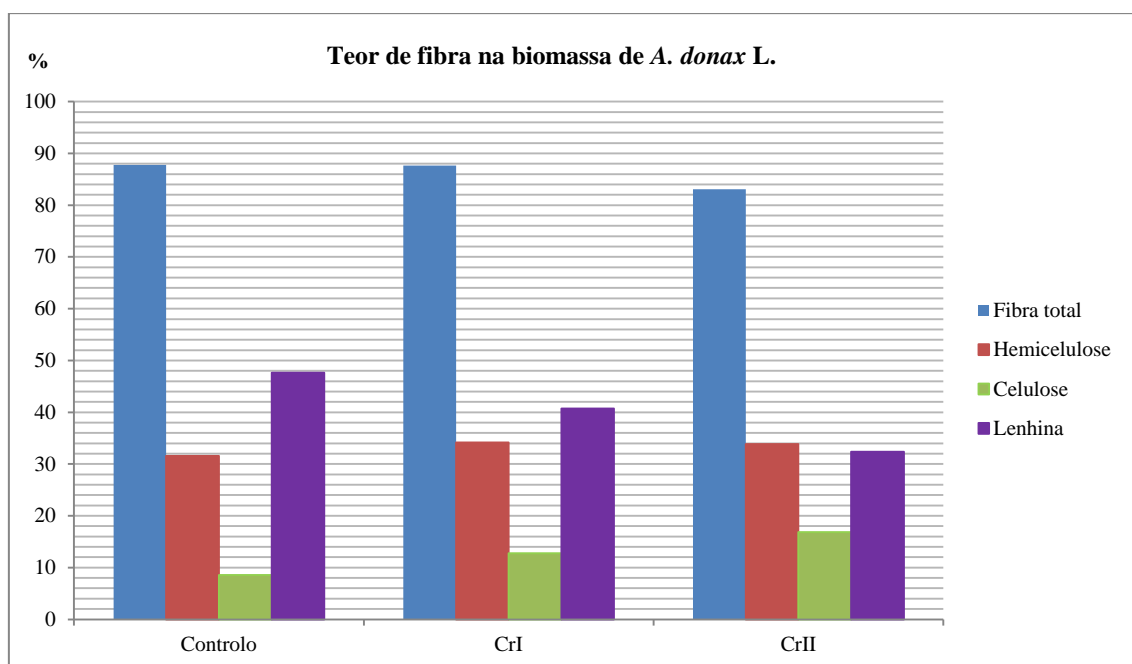
Neste ponto são avaliados os resultados da qualidade da biomassa de *Arundo donax* L. para fins de produção de fibra. Apresentam-se os teores de celulose, lenhina e hemicelulose na biomassa produzida nos diferentes tipos de solos contaminados com Zn e com Cr e para os diferentes regimes de fornecimento hídrico. As **Figuras 6.48 e 6.49** apresentam os resultados para a experiência de zinco e crómio, respectivamente. Apresentam-se os resultados médios dos conteúdos dessas moléculas por não se terem detectado diferenças entre os regimes de fornecimento hídrico testados.



**Figura 6.48:** Teor de celulose, lenhina, hemicelulose e fibra total (%) na biomassa de *A. donax* L. na experiência de zinco.

Não se registam quase diferenças entre o teor total de fibra entre tratamentos, assim como entre os teores de hemicelulose. Com menor fornecimento de água, apesar das reduzidas diferenças entre os regimes hídricos, verifica-se uma tendência para a produção de menores conteúdos em lenhina e celulose. Os teores de celulose são superiores nos solos contaminados com Zn que no controlo.





**Figura 6.49:** Teor de celulose, lenhina, hemicelulose e fibra total (%) na biomassa de *A. donax* L. na experiência de crómio.

Na experiência de crómio, também não se registaram quase diferenças entre o teor total de fibra entre tratamentos, assim como entre os teores de hemicelulose. Com menor fornecimento de água, apesar das reduzidas diferenças entre os regimes hídricos, verifica-se uma tendência para a produção de menores conteúdos em lenhina e celulose. Sob solos com maior concentração de crómio verifica-se uma diminuição dos teores de lenhina e um aumento dos teores de celulose.

Os valores de lenhina são elevados em todas as amostras, quer na experiência de Zn quer na de Cr, o que pode comprometer o uso desta biomassa para etanol de 2ª geração (Scordia et al., 2011; Scordia et al., 2012), muito superiores aos 20% apontados por Cotana et al. (2014). Pode ainda comprometer-se o aproveitamento para a produção de papel, podendo envolver custos acrescidos com operações de deslenhificação (Shatalov e Pereira, 2005). De uma lista de herbáceas perenes referida por Vassilev et al. (2012) percebe-se que quer os teores de celulose obtidos nos nossos ensaios (Zn e Cr) são demasiado baixos quer os teores de lenhina muito elevados, contudo existe um enquadramento dos teores obtidos em hemicelulose com a média dos conteúdos nessa macromolécula existentes noutras herbáceas perenes, assim como a hipótese de aproveitamento para produção de etanol (Scordia et al., 2012).

## 6.5 Análise da qualidade dos solos

No **quadro 6.54** apresentam-se os resultados da caracterização realizada ao solo, de textura argilosa, e com uma densidade aparente de  $1.3 \text{ kg.dm}^{-3}$ , antes do início dos ensaios (solo controle).

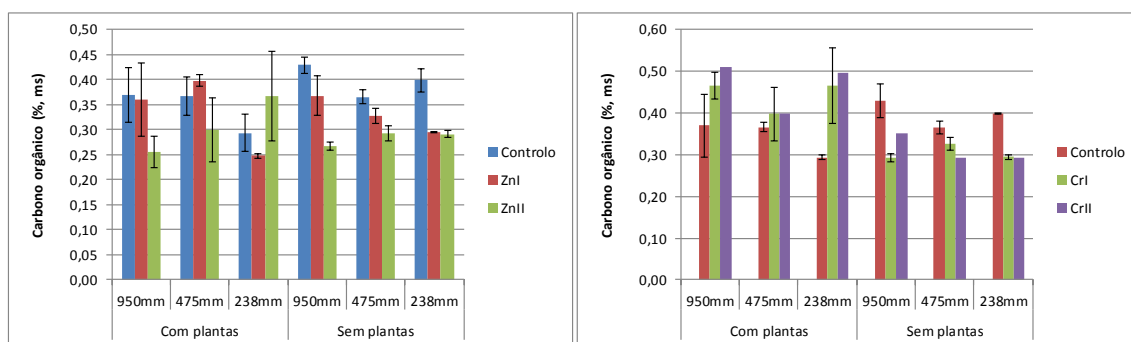
**Quadro 6.54.** Caracterização inicial do solo utilizado no ensaio de fitorremediação.

Parâmetro	Expressão de resultados	Solo
<b>Humidade</b>	%	$7.7 \pm 0.7$
<b>pH</b>	Escala de Sorensen	$7.66 \pm 0.04$
<b>Condutividade</b>	$\mu\text{S.cm}^{-1}$	$100 \pm 5$
<b>Carbono orgânico total</b>	$\text{mg C. kg}^{-1}$	$0.31 \pm 0.05$
<b>Capacidade de troca catiónica</b>	$\text{cmol C.kg}^{-1}$	$9.3 \pm 0.6$
<b>N total</b>	% ms	$0.029 \pm 0.000$
<b>N amoniacal</b>	% ms	<LD
<b>P total</b>	% ms	$0.070 \pm 0.012$
<b>Fosfatos Extraíveis</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	$25.5 \pm 2.1$
<b>Nitritos</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	<LD
<b>Nitratos</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	$0.63 \pm 0.04$
<b>Zn</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	$68.1 \pm 39.0$
<b>Cu</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	$5.28 \pm 0.04$
<b>Al</b>	$\text{g.kg}^{-1}$	$10.5 \pm 0.8$
<b>Cd</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	<LD
<b>Ca</b>	$\text{g.kg}^{-1}$	$43.2 \pm 5.2$
<b>Pb</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	<LD
<b>Fe</b>	$\text{g.kg}^{-1}$	$10.9 \pm 0.3$
<b>Mg</b>	$\text{g.kg}^{-1}$	$1.99 \pm 0.05$
<b>Mn</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	$59.9 \pm 1.0$
<b>Ni</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	$8.44 \pm 0.10$
<b>K</b>	$\text{g.kg}^{-1}$	$2.09 \pm 0.40$
<b>Na</b>	$\text{g.kg}^{-1}$	$1.50 \pm 0.07$
<b>Hg</b>	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	$539 \pm 482$
<b>Cr</b>	$\text{mg.kg}^{-1}$	$19.5 \pm 0.1$
<b>As</b>	$\mu\text{g.kg}^{-1}$	$471 \pm 266$

No final do ensaio, em Janeiro de 2014, realizaram-se análises aos solos para verificar a influência da contaminação e das relações solo-planta.

### 6.5.1 Caracterização físico-química dos solos

As análises à condutividade eléctrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) aos solos não revelaram diferenças entre tratamentos nem entre regimes de fornecimento hídrico, quer na experiência de Zn quer na de Cr. Na experiência de Cr observa-se um ligeiro aumento na condutividade nas amostras contaminadas, devido à presença das lamas, mas sem significado estatístico. Registaram-se menores valores de pH nos vasos sem plantas na experiência de Zn, mas sem diferenças estatísticas, e não se registaram diferenças entre os resultados deste parâmetro nos diferentes regimes de fornecimento hídrico. Na experiência de Cr, o pH é superior nos vasos sem plantas, mas sem diferença estatística, assim como nos diferentes regimes de fornecimento hídrico. A **Figura 6.50** apresenta os resultados do carbono orgânico dos solos. Também neste parâmetro não foram encontradas diferenças entre os tratamentos ou regimes de fornecimento hídrico, nos vasos com e sem plantas.



**Figura 6.50:** Carbono orgânico nos vasos com e sem plantas da experiência de Zn (à esquerda) e da experiência de crómio (à direita).

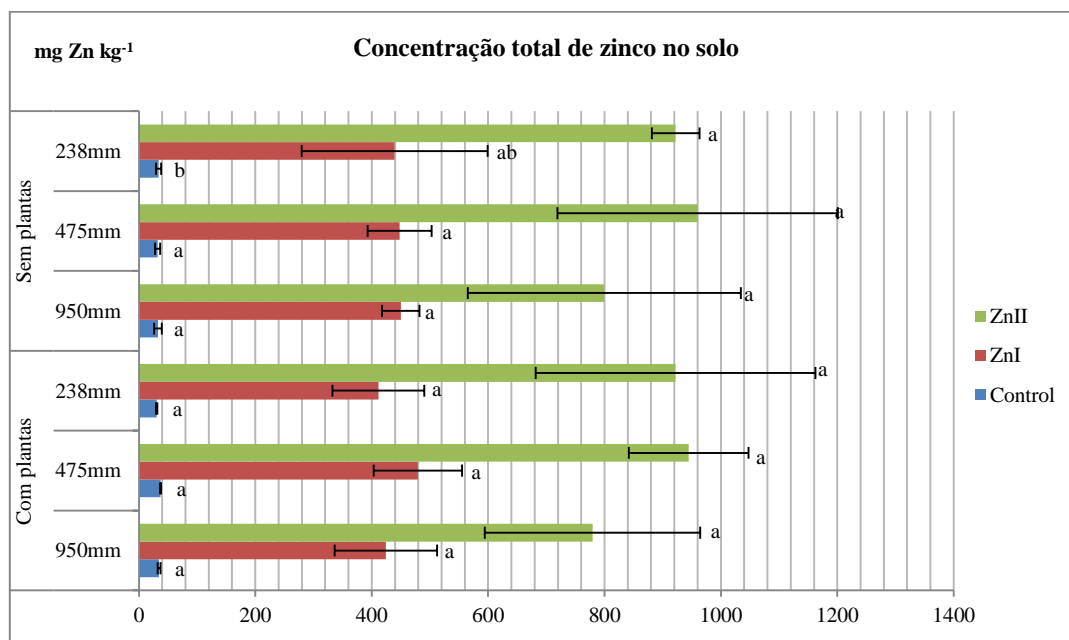
O **Quadro 6.54** apresenta os teores médios de N (%), P (%) e Ca (%), assim como dos resultados dos ensaios de toxicidade, germes totais a 22°C e da respiração do solo. Apresentam-se os valores médios dos teores de N, P e Ca por não se terem verificado diferenças quer no que diz respeito aos perfis do solo (superior ou inferior) quer aos diferentes regimes de fornecimento hídrico. Os valores percentuais do N e P são muito baixos e quase invariáveis entre diferentes solos. Os valores desses nutrientes são ligeiramente superiores nos solos contaminados com lamas de crómio. No que concerne ao valor percentual de Ca, os valores são também baixos, mas ligeiramente superiores nos solos contaminados com as lamas de crómio, rondando os 3%. De um modo geral, os solos utilizados na experiência não apresentaram teores muito diferentes entre si no que concerne ao N, P e Ca. Os ensaios de toxicidade revelaram que os solos apresentavam carácter não tóxico. Em termos de respiração do solo e germes totais, não se verificaram diferenças quer na experiência de Zn quer na de Cr.

**Quadro 6.54:** Teores médios de N, P e Ca (%) e resultados dos ensaios de toxicidade, germes totais a 22°C e respiração do solo.\*Valor médio para todos os tratamentos, por não terem sido encontradas diferenças entre as amostras contaminadas, entre si e com o controle.

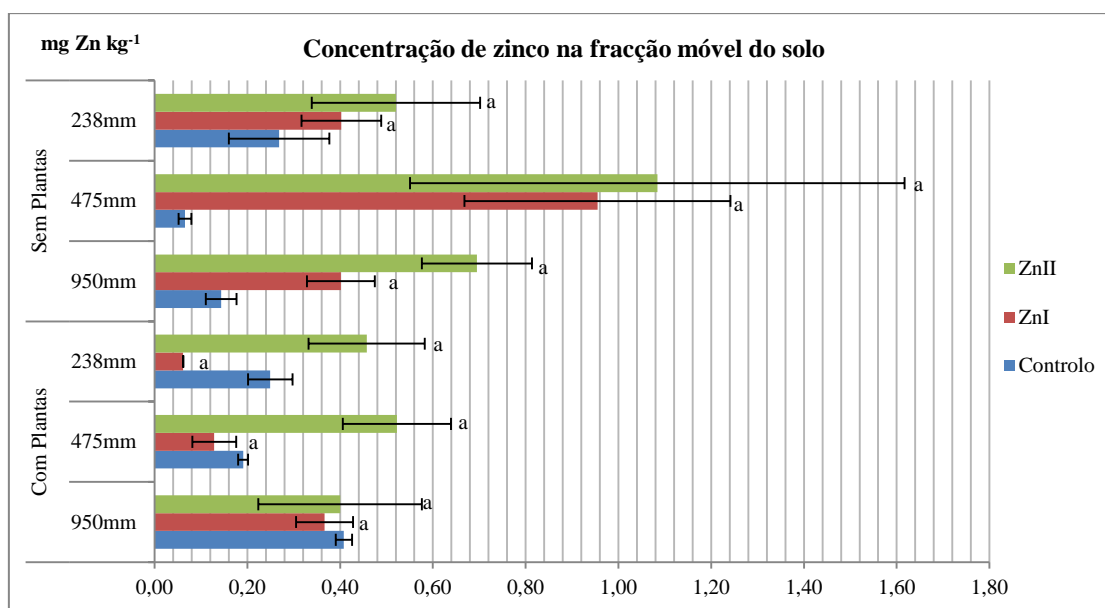
	Controlo	Zn I	Zn II	Cr I	Cr II
N (%)	0.028±0.01	0.040±0.01	0.035±0.02	0.115±0.04	0.187±0.08
P (%)	0.077±0.01	0.095±0.01	0.079±0.01	0.194±0.02	0.174±0.03
Ca (%)	1.406±1.390	2.246±0.262	1.312±0.56	2.952±1.493	3.235±0.38
Ensaio de toxicidade	EC50 = 100 mg/dm <sup>-3</sup> (1 UT's) = não tóxicos*				
Germes totais a 22°C log ufc/g	6.39±0.48*				
Respiração do solo	49±21*				

## 6.5.2 Teores de zinco no solo

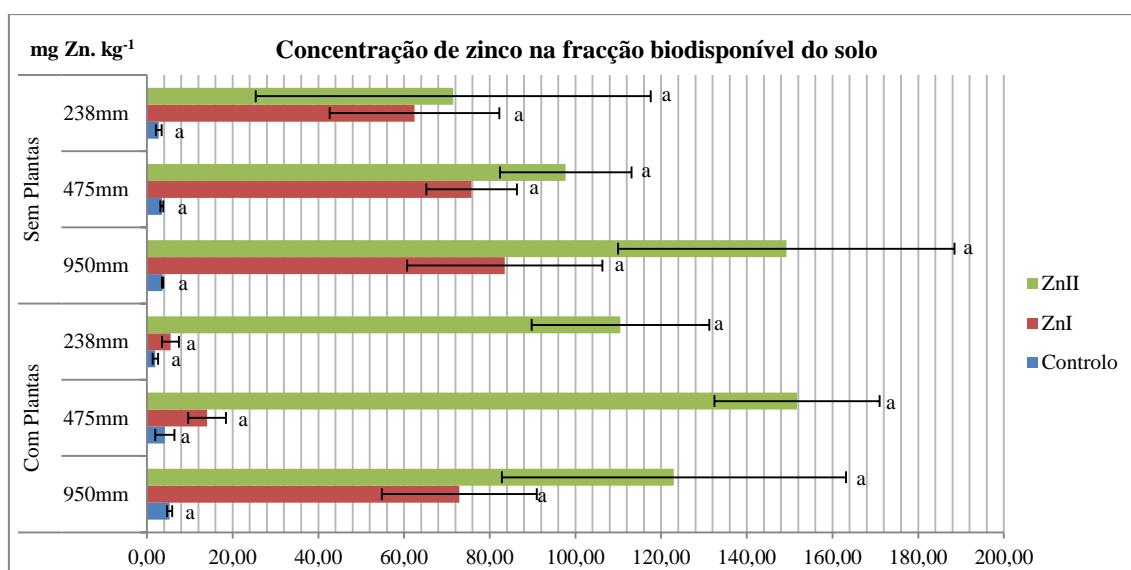
Neste ponto apresentam-se as concentrações de zinco totais (mg Zn.kg<sup>-1</sup>) presentes no solo (**Figura 6.51**), as concentrações de zinco presentes na fracção móvel (**Figura 6.52**) e as concentrações da fracção biodisponível (**Figura 6.53**) obtidas no final dos ensaios. O **Quadro 6.54** apresenta os valores dos resultados das ANOVAS para as diferenças entre perfil superior e inferior do solo nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco (mg Zn.kg<sup>-1</sup>) nos solos, o **Quadro 6.55** as diferenças (ANOVA) entre tratamentos e o **Quadro 6.56** as diferenças (ANOVA) entre vasos com e sem plantas.



**Figura 6.51:** Teor total de zinco (mg.kg<sup>-1</sup>) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa (P > 0.05).



**Figura 6.52:** Fracção móvel de zinco (mg.kg<sup>-1</sup>) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).



**Figura 6.53:** Fracção biodisponível de zinco (mg.kg<sup>-1</sup>) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

**Quadro 6.54** – Valores de P (ANOVA) para as diferenças entre perfil superior (P. Superior) e inferior (P. Inferior) do solo nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento, nos vasos com e sem plantas.

<b>Vasos com plantas: Teor de zinco (<math>\text{mg Zn.kg}^{-1}</math>)</b>	Controlo: P. Superior vs. P. Inferior	ZnI: P. Superior vs. P. Inferior	ZnII: P. Superior vs. P. Inferior
Teor total	P = 0.2431	P = 0.8674	P = 0.3737
Fracção móvel	P = 0.1704	P = 0.0737	P = 0.3538
Fracção biodisponível	P = 0.5890	P = 0.1009	P = 0.3788
<b>Vasos sem plantas: Teor de zinco (<math>\text{mg Zn.kg}^{-1}</math>)</b>			
Teor total	P = 0.6650	P = 0.9973	P = 0.8903
Fracção móvel	P = 0.4981	P = 0.1409	P = 0.7186
Fracção biodisponível	P = 0.3596	P = 0.1109	P = 0.5924

**Quadro 6.55** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre tratamentos nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nos solos.

Teor de Zn ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Vasos com plantas	Vasos sem plantas
Teor total	Fornecimento hídrico	P = 0.7436	P = 0.8736
	Tratamentos	P = 3.0E-5	P = 6.0E-5
	Interacção	P = 0.9375	P = 0.9574
Fracção móvel	Fornecimento hídrico	P = 0.3996	P = 0.3245
	Tratamentos	P = 0.0639	P = 0.1102
	Interacção	P = 0.5217	P = 0.5883
Fracção biodisponível	Fornecimento hídrico	P = 0.4203	P = 0.3423
	Tratamentos	P = 0.0004	P = 0.0129
	Interacção	P = 0.4647	P = 0.8013

**Quadro 6.56** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre vasos com plantas (VCP) e vasos sem plantas (VSP) nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento.

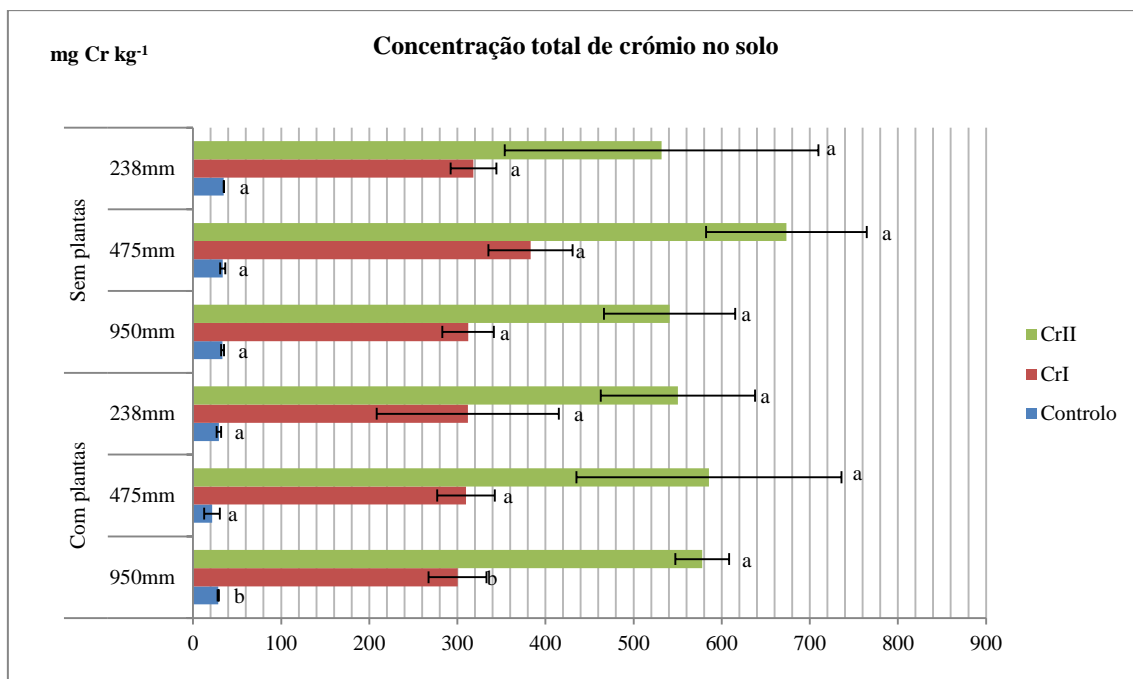
Zn ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Controlo: VCP vs. VSP	ZnI: VCP vs. VCP	ZnII: VCP vs. VSP
Teor total	Fornecimento hídrico	P = 0.8059	P = 0.9125	P = 0.6781
	Tratamentos	P = 0.7095	P = 0.9227	P = 0.9409
	Interacção	P = 0.5628	P = 0.9342	P = 0.9985
Fracção móvel	Fornecimento hídrico	P = 0.1633	P = 0.1245	P = 0.6696
	Tratamentos	P = 0.0816	P = 0.0829	P = 0.3388
	Interacção	P = 0.2280	P = 0.1276	P = 0.7950
Fracção biodisponível	Fornecimento hídrico	P = 0.3965	P = 0.0927	P = 0.6178
	Tratamentos	P = 0.6852	P = 0.0973	P = 0.5744
	Interacção	P = 0.7185	P = 0.5229	P = 0.6681

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os perfis superior e inferior do solo no que concerne à concentração total, fracção móvel e fracção biodisponível de zinco no solo. Como ambos os perfis do solo não diferiram, procedeu-se à apresentação dos resultados médios para todo o perfil do solo em conjunto. Os diferentes tratamentos apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si no que concerne aos teores totais de zinco no

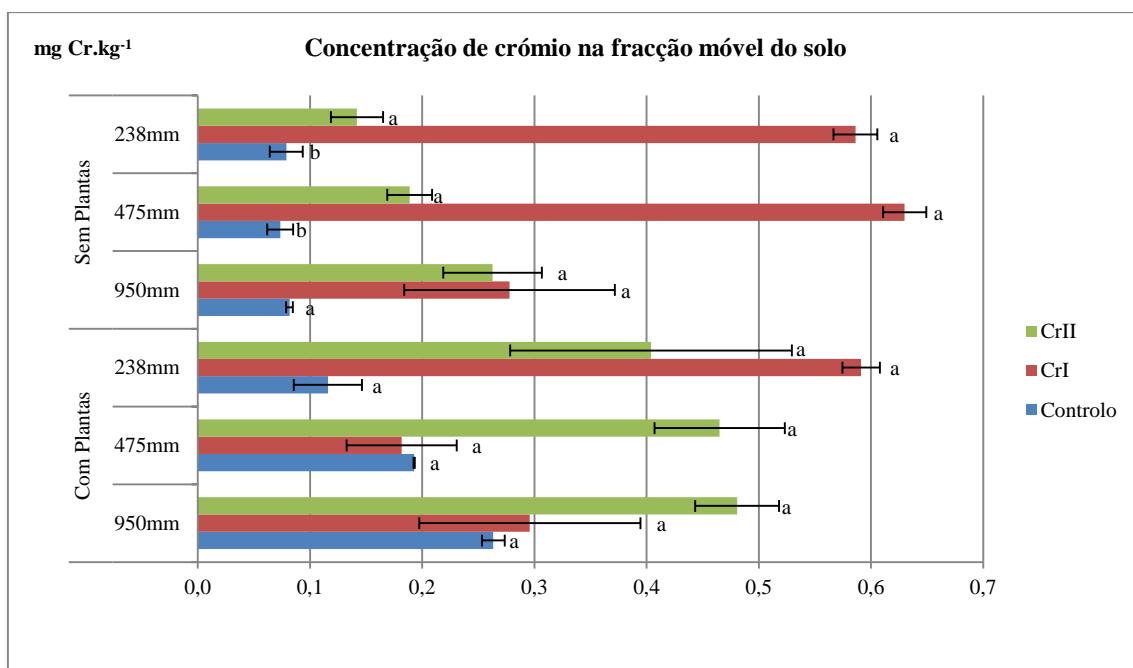
solo, fracção biodisponível e móvel de zinco. Sobretudo no que concerne aos teores totais, esse resultado era mais que esperado, por se tratarem das condições testadas no início dos ensaios, e pelo facto de quer a extracção de zinco por parte da biomassa quer as perdas por percolação terem sido muito reduzidas. A Figura 6.52 refere-se aos valores totais médios de zinco ( $\text{mg Zn.kg}^{-1}$ ) no final dos ensaios, e percebe-se assim, que os teores totais médios de zinco no solo permaneceram quase inalterados. Os resultados do teor de zinco também não diferiram de forma estatisticamente significativa entre amostras com iguais tratamentos de vasos com e sem plantas. Quando analisados todos os resultados em conjunto, quer em vasos com plantas quer nos sem plantas, e comparamos a fracção móvel dos controlos com as dos vasos com tratamentos de zinco, percebe-se que a fracção móvel de zinco é muito reduzida em todos os ensaios e que a maior parte do zinco total colocado no solo no início dos ensaios não está biodisponível. A concentração de Zn na fracção móvel do solo não segue a mesma tendência nos vasos com e sem plantas quando comparados os tratamentos em cada nível de fornecimento de água, sendo superior nos vasos sem plantas de um modo geral. A I2 e I3 a fracção móvel de zinco do controlo é superior à da amostra ZnI e a I1 superior a ZnI e ZnII, nos vasos com plantas. De um modo geral percebe-se que a presença das plantas provoca uma retenção nesta fracção de zinco no solo, sendo que esse metal é mais móvel quando o solo não contém plantas (não se verifica retenção/adsorção ao nível das raízes). Verificou-se menor extracção de zinco com EDTA a menores níveis de fornecimento de água e é maior o zinco biodisponível nos solos dos vasos sem plantas. Tal resultado sugere que as plantas são responsáveis por tal redução dessa fracção de zinco no solo, mas a biodisponibilidade de zinco não apresentou correlação com os teores desse metal obtidos nas componentes aéreas da biomassa de *A. donax* L.

### 6.5.3 Teores de crómio no solo

Apresentam-se de seguida as concentrações de crómio totais ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) presentes no solo (**Figura 6.54**), as concentrações de crómio presentes na fracção móvel (**Figura 6.55**) e as concentrações da fracção biodisponível (**Figura 6.56**) obtidas no final dos ensaios. O **Quadro 6.57** apresenta os valores dos resultados das ANOVAS para as diferenças entre perfil superior e inferior do solo nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) nos solos, o **Quadro 6.58** as diferenças (ANOVA) entre tratamentos e o **Quadro 6.59** as diferenças (ANOVA) entre vasos com e sem plantas.

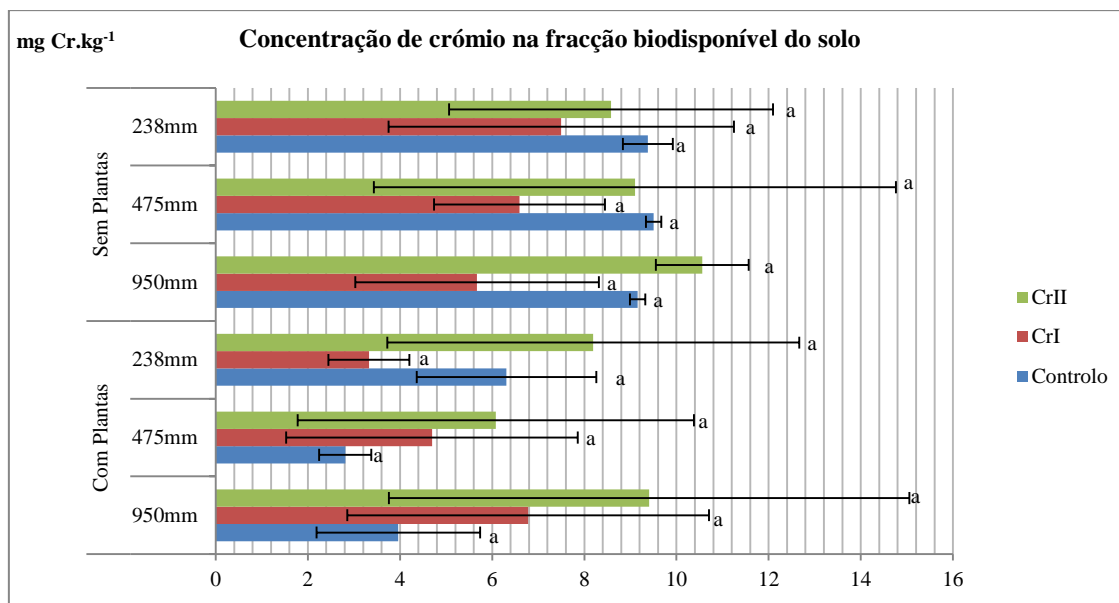


**Figura 6.54:** Teor total de crómio (mg.kg<sup>-1</sup>) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).



**Figura 6.55:** Fracção móvel de crómio (mg.kg<sup>-1</sup>) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).





**Figura 6.56:** Fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos solos. Médias em cada nível de contaminação e para o mesmo nível de fornecimento hídrico com a mesma letra, não diferem de forma significativa ( $P > 0.05$ ).

**Quadro 6.57** – Valores de P (ANOVA) para as diferenças entre perfil superior (P. Superior) e inferior (P. Inferior) do solo nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento, nos vasos com e sem plantas.

<b>Vasos com plantas: Teor de crómio (<math>\text{mg Cr. kg}^{-1}</math>)</b>	Controlo: P. Superior vs. P. Inferior	CrI: P. Superior vs. P. Inferior	CrII: P. Superior vs. P. Inferior
Teor total	P = 0.5016	P = 0.9938	P = 0.9128
Fracção móvel	P = 0.0788	P = 0.2126	P = 0.7196
Fracção biodisponível	P = 0.6903	P = 0.6246	P = 0.2756
<b>Vasos sem plantas: Teor de crómio (<math>\text{mg Cr. kg}^{-1}</math>)</b>			
Teor total	P = 0.7846	P = 0.0831	P = 0.7234
Fracção móvel	P = 0.9512	P = 0.2027	P = 0.0829
Fracção biodisponível	P = 0.7501	P = 0.8717	P = 0.9565

**Quadro 6.58** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre tratamentos nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) nos solos.

Teor de Cr ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Vasos com plantas	Vasos sem plantas
Teor total	Fornecimento hídrico	P = 0.9889	P = 0.4599
	Tratamentos	P = 2.0E-5	P = 3.0E-5
	Interacção	P = 0.9972	P = 0.8771
Fracção móvel	Fornecimento hídrico	P = 0.4493	P = 0.1739
	Tratamentos	P = 0.0156	P = 2.0E-5
	Interacção	P = 0.0795	P = 0.0160
Fracção biodisponível	Fornecimento hídrico	P = 0.8545	P = 0.9816
	Tratamentos	P = 0.6412	P = 0.5070
	Interacção	P = 0.9736	P = 0.9974

**Quadro 6.59** – Valores de P referentes ao ANOVA: factor duplo com repetição para as diferenças entre vasos com plantas (VCP) e vasos sem plantas (VSP) nas concentrações totais, fracção móvel e fracção biodisponível de crómio ( $\text{mg Cr.kg}^{-1}$ ) nos solos, para amostras com igual tratamento.

Cr ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Controlo: VCP vs. VSP	CrI: VCP vs. VCP	CrII: VCP vs. VSP
Teor total	Fornecimento hídrico	P = 0.8059	P = 0.9125	P = 0.6781
	Tratamentos	P = 0.7095	P = 0.9227	P = 0.9409
	Interacção	P = 0.5628	P = 0.9342	P = 0.9985
Fracção móvel	Fornecimento hídrico	P = 0.0356	P = 0.0459	P = 0.5648
	Tratamentos	P = 0.0007	P = 0.1190	P = 0.0129
	Interacção	P = 0.0412	P = 0.0472	P = 0.9428
Fracção biodisponível	Fornecimento hídrico	P = 0.5732	P = 0.9166	P = 0.9268
	Tratamentos	P = 0.0086	P = 0.7624	P = 0.7747
	Interacção	P = 0.5540	P = 0.9008	P = 0.9766

Não se registaram diferenças estatisticamente significativas entre perfis superior e inferior do solo, quer no que concerne aos vasos com e sem plantas, para nenhuma das fracções de crómio analisadas. Por esse motivo, pôde proceder-se à apresentação dos resultados médios para todo o perfil do solo em conjunto. Verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos a diferentes regimes de fornecimento de água nos vasos com plantas, mas não nos vasos sem plantas, no que concerne aos teores totais de crómio no solo. Os valores de crómio permanecem quase inalterados ao longo dos ensaios. A fracção móvel de crómio é maior nos controlos dos vasos que contém plantas, mas no caso de amostras contaminadas, verifica-se que a fracção móvel de zinco nos vasos sem plantas é maior que nos vasos com planta para a contaminação CrI a I2 e I3. A CrII verifica-se uma tendência de decréscimo da fracção móvel de Cr no solo de I1 para I3, e a concentração dessa fracção de Cr é maior nos vasos com plantas. No que concerne à fracção biodisponível de crómio percebe-se que existe uma maior tendência para a existência dessa fracção nos vasos sem plantas, quer nos controlos quer nas amostras contaminadas. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os controlos e as amostras contaminadas de vasos com e sem plantas ao nível da fracção total e móvel de crómio do solo, mas verificou-se ao nível da fracção biodisponível nos controlos, o que reflecte

o efeito da presença das plantas. Curiosamente, tal não se registou para as amostras contaminadas.

## 6.6 Caracterização das águas de irrigação e de percolação

O **Quadro 6.60** apresenta os resultados médios da caracterização físico-química das águas de irrigação utilizadas nos nossos ensaios, assim como os valores máximos recomendáveis (VMR) do Anexo XVI e valores máximos admissíveis do Anexo XVI do Decreto-Lei 236/98 de 1 de Agosto. O controlo da qualidade da água da torneira foi efectuado por este anexo porque é aquele que traduz a qualidade das águas destinadas à rega.

**Quadro 6.60** – Caracterização físico-química das águas de irrigação.

Parâmetro	Água da torneira	VMR (anexo XVI)	VMA (anexo XVI)
pH	6,1 ± 0,2	6,5-8,4	4,5-9,0
Condutividade (mS.cm <sup>-3</sup> )	0,42 ± 0,02	-	-
Oxidabilidade (mgO <sub>2</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,23 ± 0,08	-	-
N amoniacal (mg NH <sub>4</sub> .dm <sup>-3</sup> )	< 0,14	-	-
Cloretos (mg Cl <sup>-</sup> .dm <sup>-3</sup> )	81,2 ± 2,3	70	-
Nitritos (mg NO <sub>2</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,030 ± 0,003	-	-
Nitratos(mg PO <sub>4</sub> .dm <sup>-3</sup> )	5,5 ± 0,08	50	-
Fosfatos (mg PO <sub>4</sub> .dm <sup>-3</sup> )	0,042 ± 0,002	-	-
Pb (mg.dm <sup>-3</sup> )	< 0,10	5,0	20
Ni (mg.dm <sup>-3</sup> )	< 0,063	0,5	2,0
Cd (mg.dm <sup>-3</sup> )	< 0,032	0,01	0,05
Cr (mg.dm <sup>-3</sup> )	< 0,05	0,10	20
Zn (mg.dm <sup>-3</sup> )	0,274 ± 0,005	2,0	10,0
Cu (mg.dm <sup>-3</sup> )	0,131 ± 0,039	0,20	5,0
Fe (mg.dm <sup>-3</sup> )	0,055 ± 0,013	5,0	-
Mn (mg.dm <sup>-3</sup> )	< 0,029	0,20	10
Al (mg.dm <sup>-3</sup> )	< 0,34	5,0	20
Ca (mg.dm <sup>-3</sup> )	44 ± 14	-	-
Mg (mg.dm <sup>-3</sup> )	7,1 ± 1,4	-	-
K (mg.dm <sup>-3</sup> )	17,8 ± 7,2	-	-
Na (mg.dm <sup>-3</sup> )	44 ± 13	-	-

Observa-se no quadro 6.60 que, a água da torneira apresenta um teor elevado em cloretos, encontrando-se acima do VMR previsto no anexo XVI. Todavia, aquele anexo não apresenta VMA para o parâmetro em causa, significando que não está impedida a sua utilização na rega. Ainda assim, deverá proceder-se à monitorização daquele parâmetro com a periodicidade definida no anexo XVII.

O **Quadro 6.61** apresenta os valores médios, entre diferentes regimes de fornecimento hídrico, vasos com e sem plantas, e para os dois anos, dos resultados do pH, condutividade, oxidabilidade,  $\text{CBO}_5$ , germes totais a 22 °C e do ensaio de toxicidade. Procedeu-se à apresentação somente dos valores médios, por não se terem verificado diferenças entre os valores desses parâmetros nas águas provenientes de percolação entre vasos com e sem plantas, entre anos e entre diferentes regimes de fornecimento hídrico. Relativamente aos resultados obtidos, o pH médio dos controlos, encontra-se abaixo dos VMR no Anexo XVI do Decreto-Lei 36/98 de 1 de Agosto. Os restantes valores de pH encontram-se na gama definida no VMR do Anexo XVI do Decreto-Lei 36/98 de 1 de Agosto, e não diferem de forma significativa entre tratamentos.

**Quadro 6.61** – Caracterização físico-química das águas de percolação.\*Valor médio para todos os tratamentos, por não terem sido encontradas diferenças entre as amostras contaminadas, entre si e com o controlo.

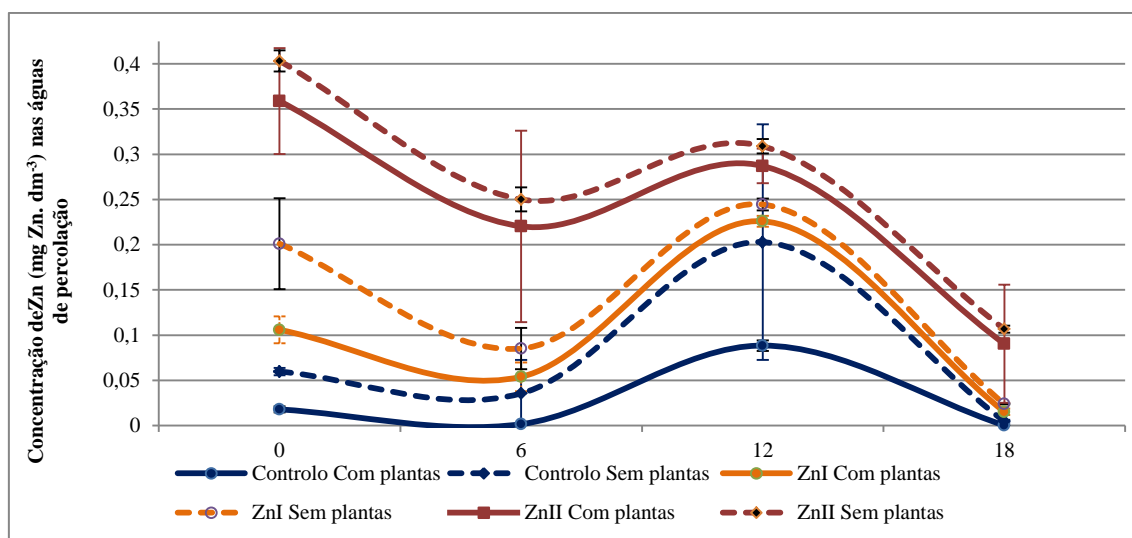
		<b>Controlo</b>	<b>Zn I</b>	<b>Zn II</b>	<b>Cr I</b>	<b>Cr II</b>
pH	Escala de Sorensen	6.5±1.3	7.5±0.2	7.5±0.3	7.5±0.2	7.3±0.2
Condutividade	mS.cm <sup>-1</sup>	1.48±0.92	2.11±0.74	1.53±0.32	1.24±0.22	2.40±0.07
Oxidabilidade	mgO <sub>2</sub> .dm <sup>-3</sup>	5.42±1.06	9.13±4.33	7.53±5.93	8.96±1.36	9.69±3.56
$\text{CBO}_5$	mgO <sub>2</sub> .dm <sup>-3</sup>			3±2*		
Germes totais a 22°C	Log ufc/ml			5.03±0.56*		
Ensaio de toxicidade		1 UT's = não tóxicos*				

Os valores de condutividade também não diferem de forma significativa entre tratamentos mas é superior nas amostras ZnI e CrII. Os valores médios das oxidabilidades, de todas as amostras, apontam para valores um pouco altos, acima de 5mg O<sub>2</sub> dm<sup>-3</sup>, valor paramétrico não referido no Decreto-Lei 36/98 de 1 de Agosto, e que por essa razão está de acordo com os critérios de qualidade nele referidos. Só a título de curiosidade, o valor de 5mg O<sub>2</sub> dm<sup>-3</sup> é referido no Decreto-Lei nº 306/2007, de 27 de Agosto, que estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano, um requisito demasiado exigente, para os objectivos deste trabalho. As oxidabilidades são elevadas nas amostras de percolados provenientes de solos ZnI e nas amostras provenientes de solos contaminados com as lamas de crómio. Os ensaios de toxicidade revelaram que os percolados apresentaram carácter não tóxico. As análises da  $\text{CBO}_5$  e aos germes totais revelaram que não existem diferenças, nem entre diferentes tratamentos na dentro das experiências de Zn ou de Cr, nem entre experiências.

### 6.6.1 Concentração de zinco (Zn) nas águas de percolação

Neste ponto analisamos a evolução das concentrações de zinco (mg.dm<sup>-3</sup>) nas águas recolhidas por percolação ao longo do tempo de ensaios (2 anos) para as diferentes amostras com e sem

plantas (**Figura 6.57**). Por não se terem detectado diferenças entre os vários regimes de fornecimento hídrico, em nenhuma das datas de recolha de percolados, optou-se por não se apresentar os dados da variação da concentração de zinco nas águas de percolação por nível de fornecimento hídrico e por amostra, apresentando-se os valores médios obtidos entre os três regimes hídricos referentes a cada amostra, facto que nos permite destacar as diferenças existentes nos conteúdos das águas recolhidas de vasos com e sem plantas, e desse modo, verificarmos também se a presença das plantas (nomeadamente do seu sistema radicular) tem algum efeito na composição em Zn ( $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) nessas águas recolhidas (por comparação com os conteúdos de zinco recolhidos nos percolados das amostras de vasos sem plantas). Os resultados da concentração de Zn ( $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) relativos aos vasos sem plantas são aqui considerados como controlo em relação aos resultados obtidos nos vasos com plantas com iguais tratamentos.



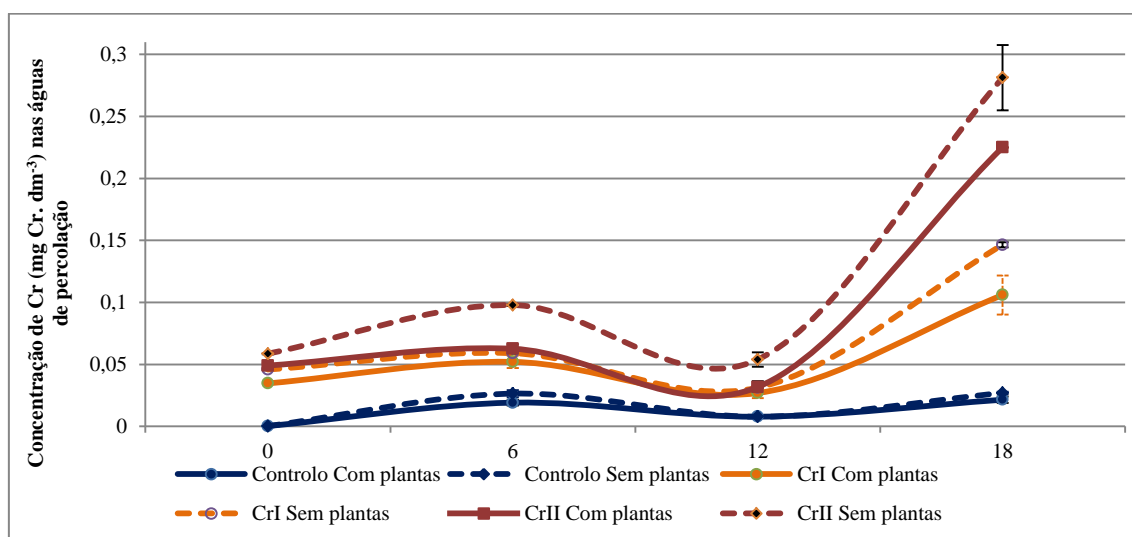
**Figura 6.57:** Evolução das perdas de Zn ( $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) por percolação registada ao longo do tempo dos ensaios (meses).

No tempo inicial, verifica-se que a amostra ZnII dos vasos com plantas apresenta os maiores valores de perdas dos ensaios (embora sempre desprezáveis), e que as perdas de zinco por percolação são maiores nas amostras ZnII que nas amostras ZnI, e nestas maiores que nas amostras controlo. Na segunda recolha, os valores de todas as amostras contaminadas baixam, quer dos vasos com plantas quer dos vasos sem plantas, e os valores de perdas de zinco observadas nos controlos mantêm o mesmo comportamento. Em todas as amostras se verifica um ligeiro acréscimo aos 12 meses de ensaio. Da observação desta figura, e sobretudo se atendermos à escala da representação gráfica da evolução das perdas de zinco por percolação, percebe-se que o zinco perdido por percolação é praticamente nulo, e que por isso não existe risco de contaminação de águas subterrâneas, se considerada uma hipotética situação real em campo, em que fossem observadas condições e características edafo-climáticas semelhantes às

simuladas nos nossos ensaios. A tendência das perdas de zinco para todas as amostras é de decréscimo. Tal evidencia um efeito ou de crescimento da retenção de zinco ao nível das raízes de *A. donax* L., ou ao nível do solo. Para todos os momentos dos ensaios se registaram valores de concentração de zinco inferiores ao valor máximo admissível no Anexo I do Decreto-Lei 236/98 ( $3 \text{ mg.dm}^{-3}$ ), relativo à «Qualidade das águas doces superficiais destinadas à produção de água para consumo humano» e águas subterrâneas (coluna A1 do mesmo Anexo).

### 6.6.2 Concentração de crómio (Cr) nas águas de percolação

Neste ponto analisamos a evolução das concentrações de crómio ( $\text{mg.dm}^{-3}$ ) nas águas recolhidas por percolação ao longo do tempo de ensaios (2 anos) para as diferentes amostras com e sem plantas (**Figura 6.58**).



**Figura 6.58:** Evolução das perdas de Cr ( $\text{mg.dm}^{-3}$ ) por percolação registada ao longo do tempo dos ensaios (meses).

Todas as amostras com igual tratamento seguem uma tendência semelhante ao longo do tempo dos ensaios, e as amostras com maior concentração inicial de crómio nos solos envolvem maiores perdas que as contaminadas de menor concentração e controlo, respectivamente. Para todas, contudo, as perdas de crómio por esta via são desprezáveis, em todos os momentos dos ensaios (sempre inferiores a  $0,3 \text{ mg.dm}^{-3}$ ). Neste caso, contudo, não se verifica uma tendência de decréscimo dos valores das perdas, mas de aumento, embora sempre desprezáveis pelo valor de concentração detectado. Também aqui não existe risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas, se considerada uma hipotética situação real em campo, em que fossem observadas condições e características edafo-climáticas semelhantes às simuladas nos nossos ensaios.

## 6.7 Resultados da fitorremediação

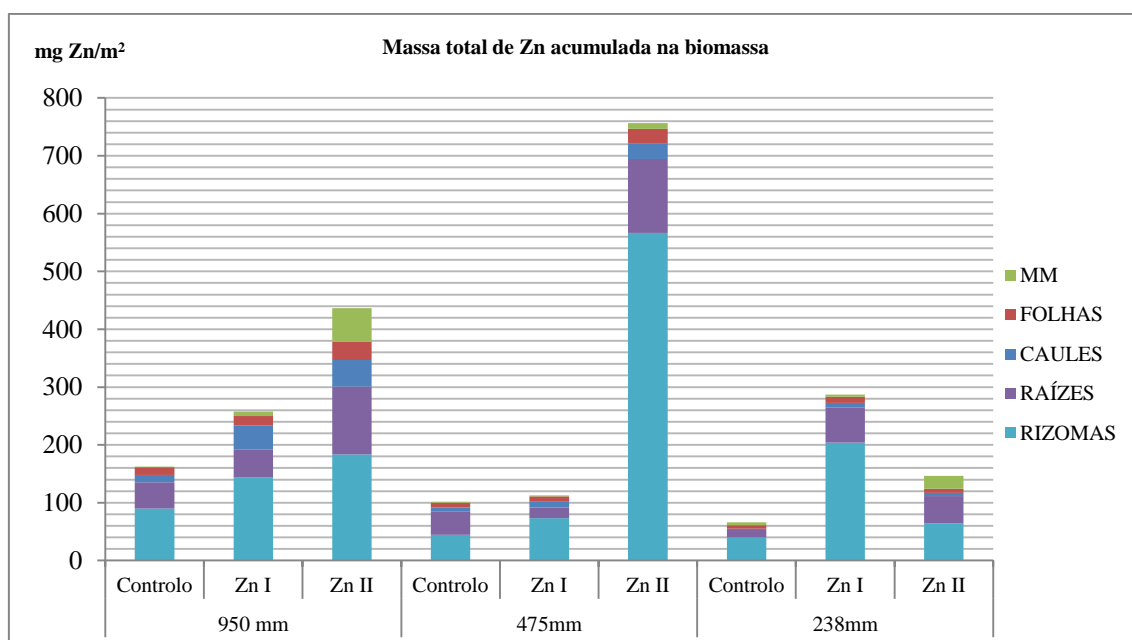
Neste ponto é avaliada a capacidade que as plantas de *A. donax* L. apresentam na fitorremediação de solos contaminados com zinco e crómio. O potencial de fitorremediação do *A. donax* L. poderá estar associado à sua capacidade que o seu sistema radicular tem de adsorver metais presentes no solo, estabilizando e imobilizando os contaminantes que de outro modo poderiam ser facilmente lixiviados. Esse potencial pode também estar associado à libertação de exsudados e de enzimas para o solo, que podem estimular a remediação dos poluentes, através da estabilização/imobilização desses metais. Também a respiração da fracção radicular pode ser responsável por libertar CO<sub>2</sub> para o meio, que, dissolvido na solução aquosa do solo e em meio básico, pode precipitar os metais da solução do solo, sob a forma de carbonatos. O potencial de fitorremediação desta espécie pode também estar associado à estimulação da estabilização/imobilização dos metais, por fungos ou outros microrganismos localizados na sua rizosfera. A perspectiva fitoextractora é a mais interessante, quer do ponto de vista ambiental, quer do ponto de vista económico, dado que o processamento da biomassa vegetal extractora pode representar uma forma de valorização económica, sobretudo se promove a remoção dos metais dos solos onde se encontravam depositados. Considerando a perspectiva da acção fitoextractora do *A. donax* L., a acumulação metálica pode ser definida de duas formas, de acordo com Peterson (1971): a) pela verificação da presença de maiores quantidades de um dado elemento do que é habitual para esse organismo, e b) pela acumulação de um dado elemento no organismo, em concentrações superiores às do meio de crescimento.

A presente análise apresenta para o zinco e para o crómio, em primeira instância, a massa de metal acumulada na biomassa das plantas e extraída por sua colheita (por fracção da planta). Neste ponto consideraram-se os resultados referidos na análise das perdas de zinco e crómio por percolação, assim como os resultados das produtividades de cada fracção da biomassa em todas as condições testadas. O somatório das fracções aéreas das plantas devolve-nos o total extraído por colheita da biomassa (fitoextracção), enquanto a diferença entre o total de metal acumulado na totalidade da biomassa da planta e as componentes aéreas, o total imobilizado no solo pelo sistema radicular da planta (fitoestabilização). De seguida, apresentam-se as percentagens de remoção para cada metal, face ao total de metal colocado no solo, mas também face ao total que se encontra biodisponível, a fracção que demonstra maior interesse na fitorremediação, uma vez que as plantas não poderão aceder à totalidade metálica presente no solo (limitação da tecnologia de fitorremediação). De modo a averiguar se a planta pode ser considerada fitorremediadora, procedeu-se ao cálculo de factores de bioacumulação considerando ambos os pressupostos de Peterson (1971): o primeiro levando em conta o teor metálico presente numa determinada fracção do solo (total ou biodisponível); e o segundo considerando o acumulado/

extraído por uma determinada amostra contaminada face ao respectivo controlo (para cada regime de fornecimento hídrico).

### 6.7.1 Fitorremediação de zinco

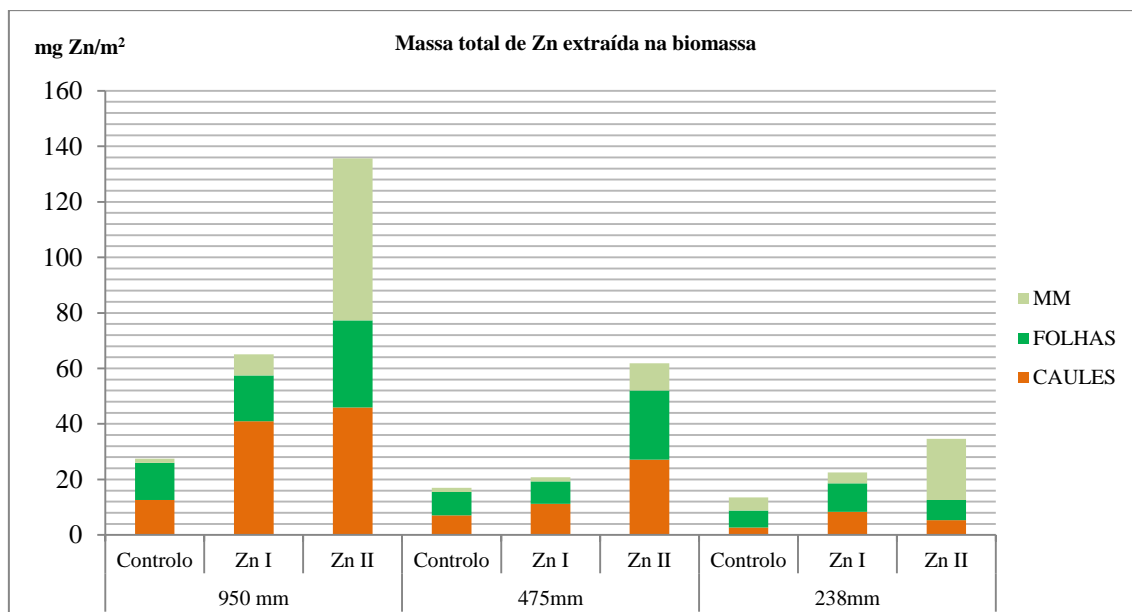
A **Figura 6.59** engloba o total de zinco extraído pelos rizomas e raízes em toda a experiência, assim como o somatório da massa de zinco acumulada nas componentes aéreas (massa total de zinco acumulada na biomassa de *A. donax* L.). A **Figura 6.60** apresenta o total acumulado nas componentes aéreas da mesma biomassa, e representa o total de zinco que poderá ser extraído do solo, via colheita da biomassa (fitoextracção).



**Figura 6.59:** Fitorremediação de zinco utilizando *A. donax* L.

É notória a maior acumulação de zinco nas raízes e rizomas que nas componentes aéreas, e só por essa razão, o *A. donax* L. apresenta maior potencial para imobilização/ estabilização de zinco que para fitoextracção. Contudo, uma vez que a fitoextracção é mais atractiva em termos económicos, dedicamos também atenção a estes resultados em detalhe (na Figura 6.60). Percebe-se que ocorre maior acumulação de zinco nas amostras em cujos solos continham maior concentração do mesmo metal, a II e I2, mas não a I3. De facto, não ocorre maior acumulação em ZnII que em ZnI a 238 mm, como era expectável. A maior presença de água no solo não se traduz numa maior absorção de zinco no interior das estruturas das plantas, uma vez que as plantas que acumulam mais zinco são as da amostra ZnII a 475 mm.

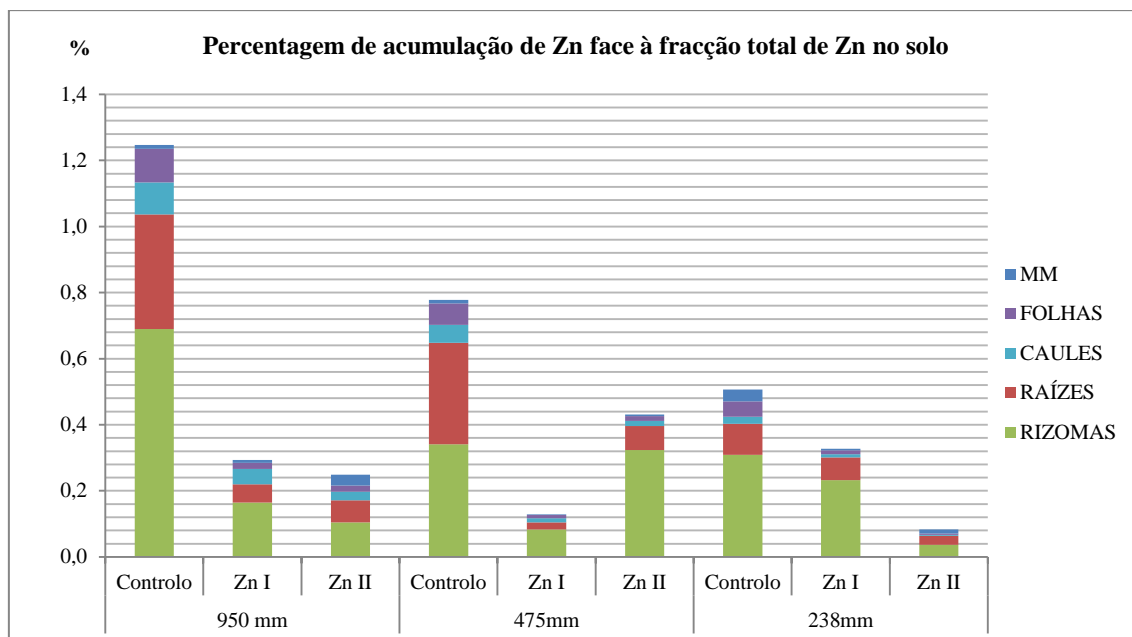




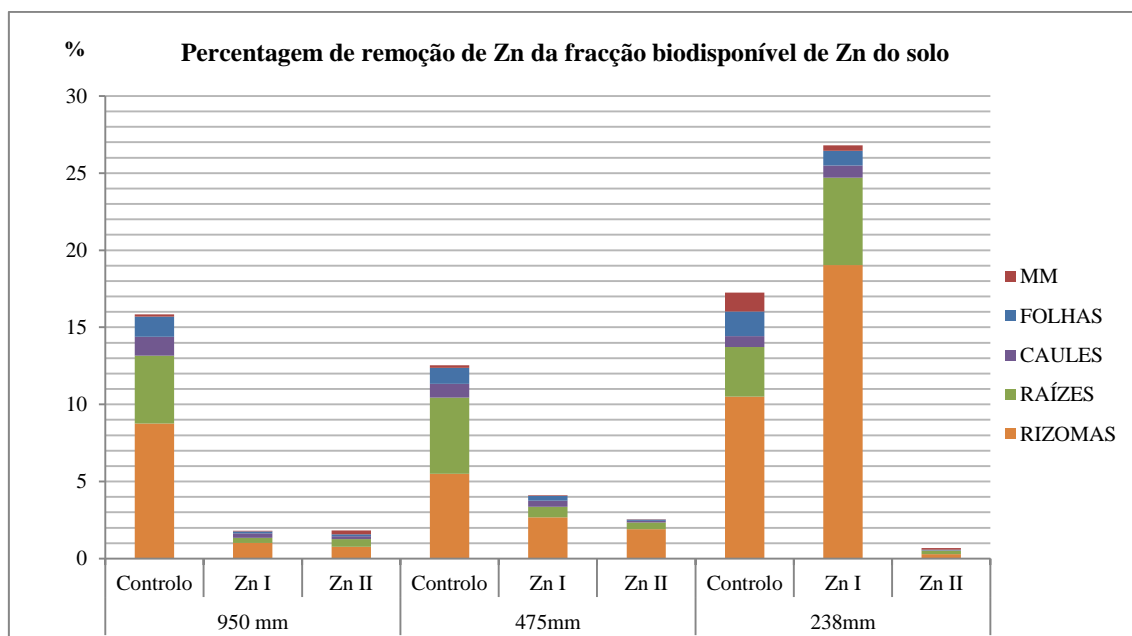
**Figura 6.60:** Fitoextração de zinco utilizando *A. donax* L.

Contudo, se analisada somente a biomassa extraída via colheita, percebe-se que os teores de zinco acumulados nas componentes aéreas seguem sempre a mesma tendência, em todos os níveis de fornecimento hídrico. Outra tendência expectável, que também se verifica, remete para a diminuição dos conteúdos de zinco acumulados na biomassa a regimes de fornecimento hídrico inferiores, facto que não se verificou no total de zinco acumulado na biomassa, como vimos. Por exemplo o total de zinco extraído pelas plantas dos solos ZnII a 950 mm atinge os  $135 \text{ mg Zn.kg}^{-1}$ , enquanto só extraem  $62 \text{ mg Zn.kg}^{-1}$  a 475 mm e  $34 \text{ mg Zn.kg}^{-1}$  a 238 mm.

Se considerarmos os teores totais de zinco presentes no solo (fracção total de zinco no solo) e os relacionarmos com os teores removidos por todas as componentes das plantas percebe-se que em termos percentuais, a técnica permite acumulações de zinco pouco significativas (**Figura 6.61**). Efectivamente, o máximo que o total da biomassa consegue acumular face à fracção total de Zn presente no solo ronda os 0.4% nos solos com contaminação ZnII e a 475 mm. Contudo, este cálculo faz somente sentido de um modo ilustrativo, uma vez que as plantas não poderão aceder à totalidade de zinco presente no solo. Assim, e para sermos mais precisos, deveremos aplicar igual análise em relação à fracção biodisponível de zinco no solo (**Figura 6.62**).



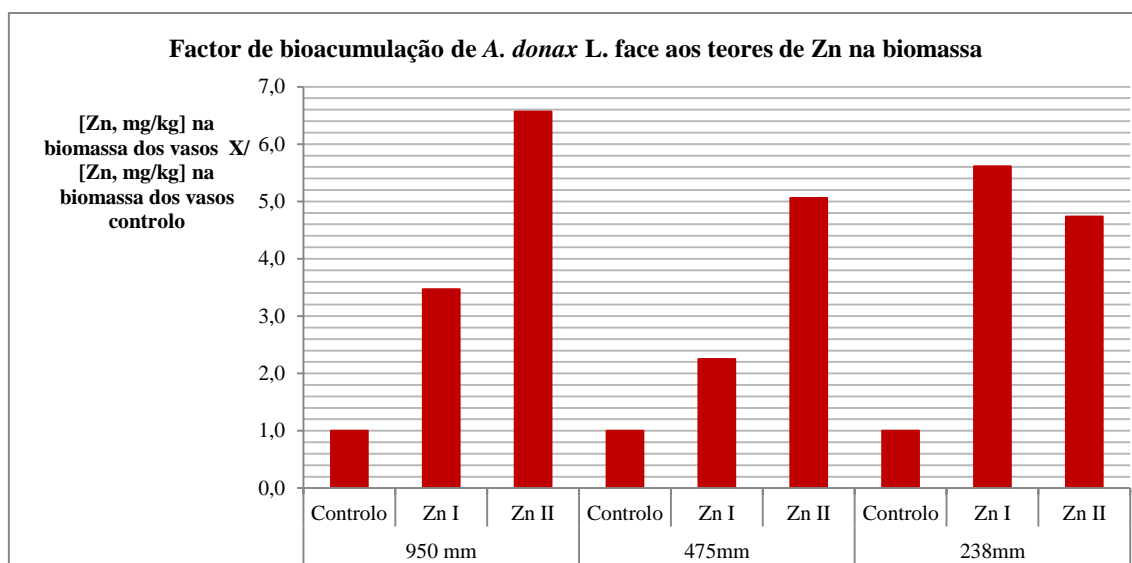
**Figura 6.61:** Percentagem de acumulação (%) de zinco da fracção total de Zn do solo.



**Figura 6.62:** Percentagem de acumulação (%) de zinco da fracção biodisponível de Zn do solo.

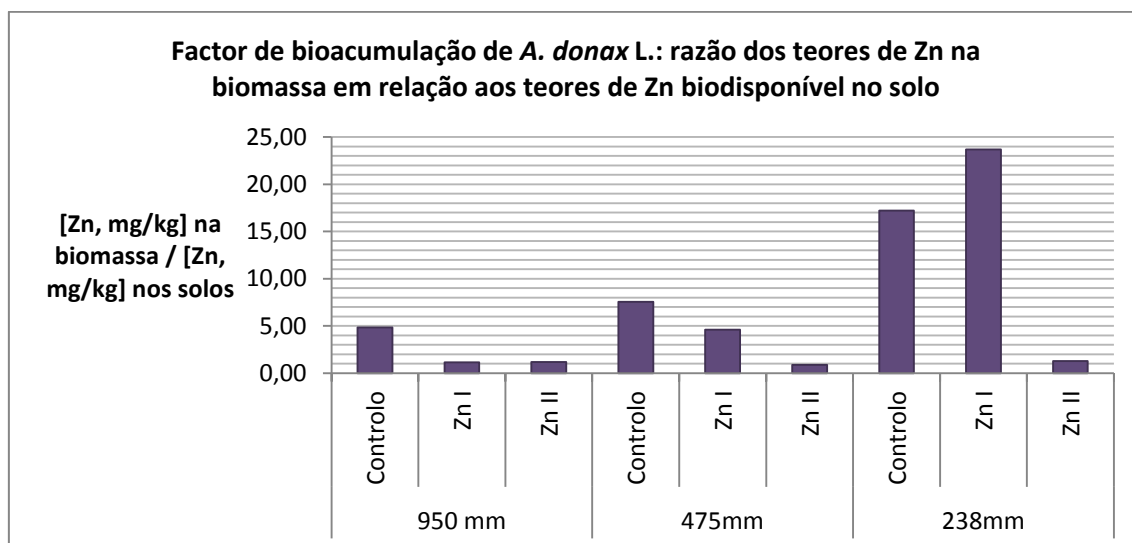
Face aos teores de zinco biodisponíveis no solo verifica-se que a amostra ZnI a 238 mm apresenta resultados muito interessantes, rondando os 26%, muito em virtude ao acumulado nos rizomas e raízes. Nessas condições a biomassa aérea extrai cerca de 4% da fracção biodisponível de zinco do solo. Face à fracção biodisponível de zinco no solo, a biomassa acumula mais zinco em condições de menores disponibilidades hídricas.

A **Figura 6.63** apresenta os factores de bioacumulação do total da biomassa face à concentração de zinco na biomassa obtida nos vasos controlo, de acordo com o primeiro pressuposto referido por Peterson (1971).



**Figura 6.63:** Factor de bioacumulação de zinco face aos teores de Zn na biomassa.

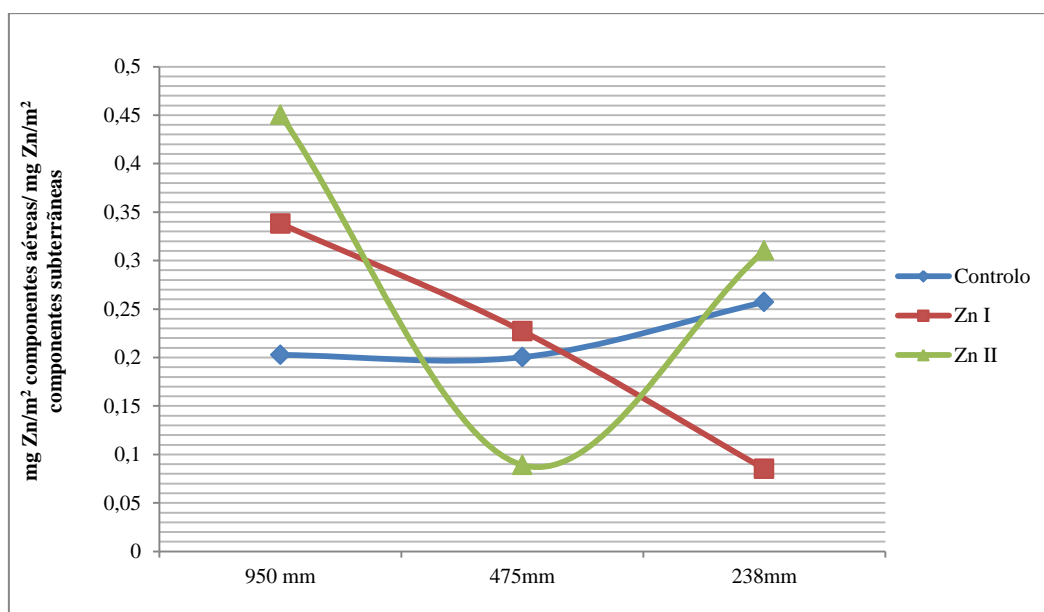
Esta análise mostra que as plantas se comportam como fitoextractoras de zinco. Há um aumento da concentração de Zn na biomassa face à concentração obtida nos vasos controlo, com o aumento da concentração de Zn no solo. A **Figura 6.64** apresenta para as mesmas amostras, os factores de bioacumulação da biomassa em relação ao solo, para cada nível de fornecimento hídrico (de acordo com o segundo pressuposto de Peterson, 1971; apresentado acima).



**Figura 6.64:** Factor de bioacumulação de zinco no total da biomassa de *A. donax* L. de cada face aos teores de Zn biodisponível nos solos.

Este resultado indica que a biomassa apresenta maior quantidade de Zn na biomassa do que no meio de crescimento (solo), indicando o carácter fitoextractante do Arundo.

A **Figura 6.65** apresenta as razões entre os teores de zinco acumulados nas componentes aéreas e os acumulados nas subterrâneas, de modo a perceber-se se temos translocação de zinco para as componentes aéreas da biomassa. Essa razão é sempre inferior a 1 para todas as amostras, a todos os regimes de fornecimento hídrico, pelo que pode concluir-se que as plantas acumulam sobretudo nas componentes subterrâneas da biomassa, não ocorrendo translocação para as componentes aéreas. Assim, a planta *A. donax* L. pode ser utilizada com sucesso na fitoestabilização de zinco de solos contaminados com esse metal. Não se trata de uma espécie que possa ser considerada hiperacumuladora de zinco considerando, por exemplo, a definição de Prasad (2004), segundo a qual uma determinada espécie deverá apresentar acumulação de Zn acima de 1% na sua biomassa. Trata-se de uma planta tolerante ao zinco, que pode ser cultivada em terrenos contaminados com esse metal.

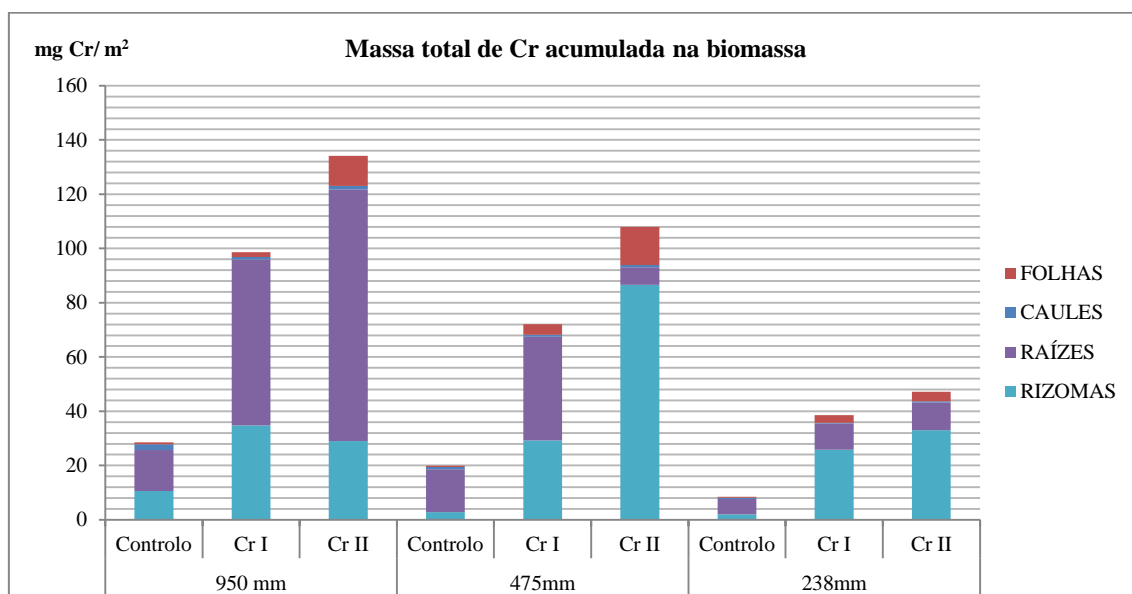


**Figura 6.65:** Razão entre o teor de zinco ( $\text{mg Zn/m}^2$ ) acumulado nas componentes aéreas e os teores de zinco ( $\text{mg Zn/m}^2$ ) acumulados nas componentes subterrâneas da biomassa.

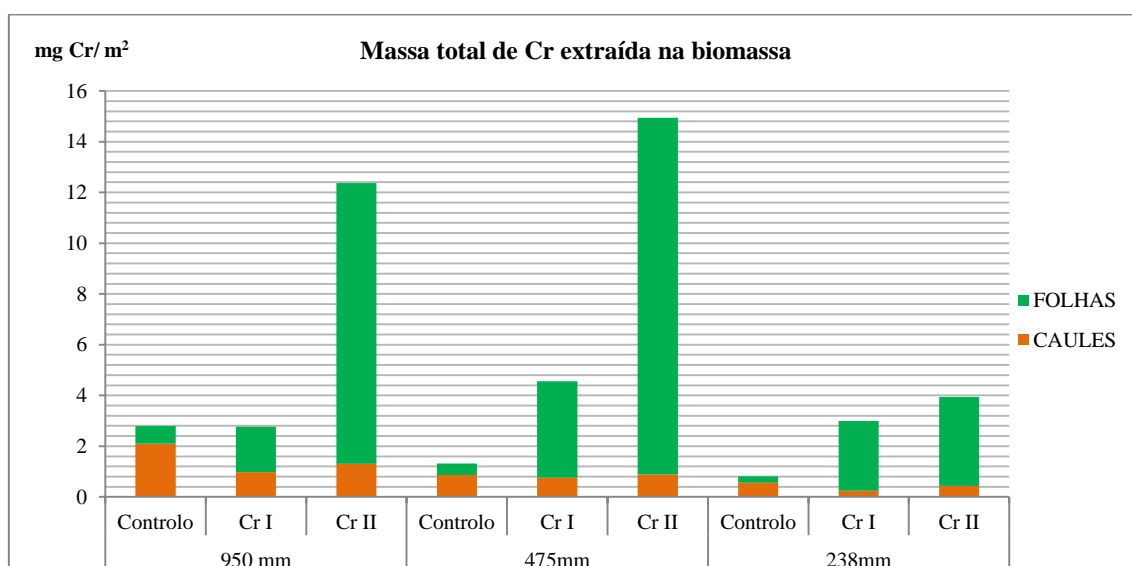
### 6.7.2 Fitorremediação de crómio

A mesma análise descrita anteriormente para o zinco, foi efectuada para o crómio, com a diferença que não foram contabilizados os resultados da MM, por pensarmos que estes se encontravam contaminados com as lamas de crómio, e por essa via sobrevalorizarem a importância real das folhas mortas em termos de acumulação de crómio. A **Figura 6.66** apresenta esses resultados para a totalidade da biomassa. Verifica-se que é acumulado menos

crómio que zinco na biomassa, e mais nas amostras contaminadas que nos respectivos controlos. Tal como ocorrera para o zinco, também ocorre maior acumulação deste metal ao nível das componentes subterrâneas, comportando-se também no caso do crómio, como uma planta que garante a fitoestabilização/ imobilização do crómio ao nível da rizosfera. A maior acumulação de crómio verifica-se na amostra CrII a 950 mm ( $133 \text{ mg Cr.kg}^{-1}$ ). Perante o mesmo tipo de contaminação no solo as plantas acumularam  $108 \text{ mg Cr.kg}^{-1}$  a 475 mm e  $48 \text{ mg Cr.kg}^{-1}$  a 238 mm. A **Figura 6.67** apresenta o total acumulado nas componentes aéreas da mesma biomassa, e representa o total de crómio que poderá ser extraído do solo, via colheita da biomassa (fitoextração).

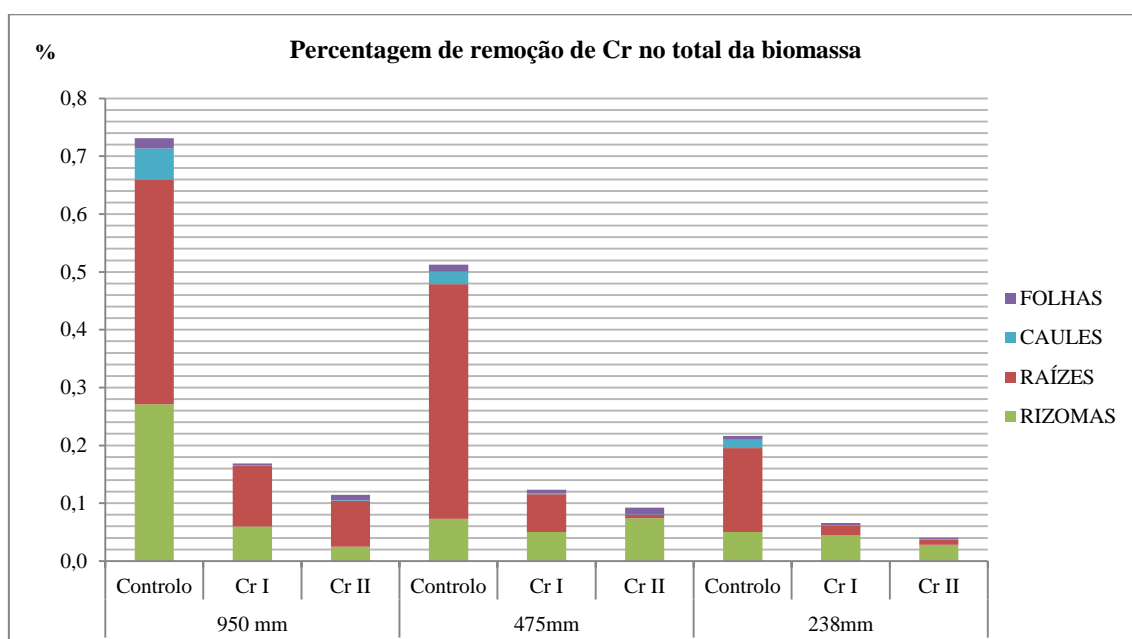


**Figura 6.66:** Fitorremediação de crómio utilizando *A. donax* L.



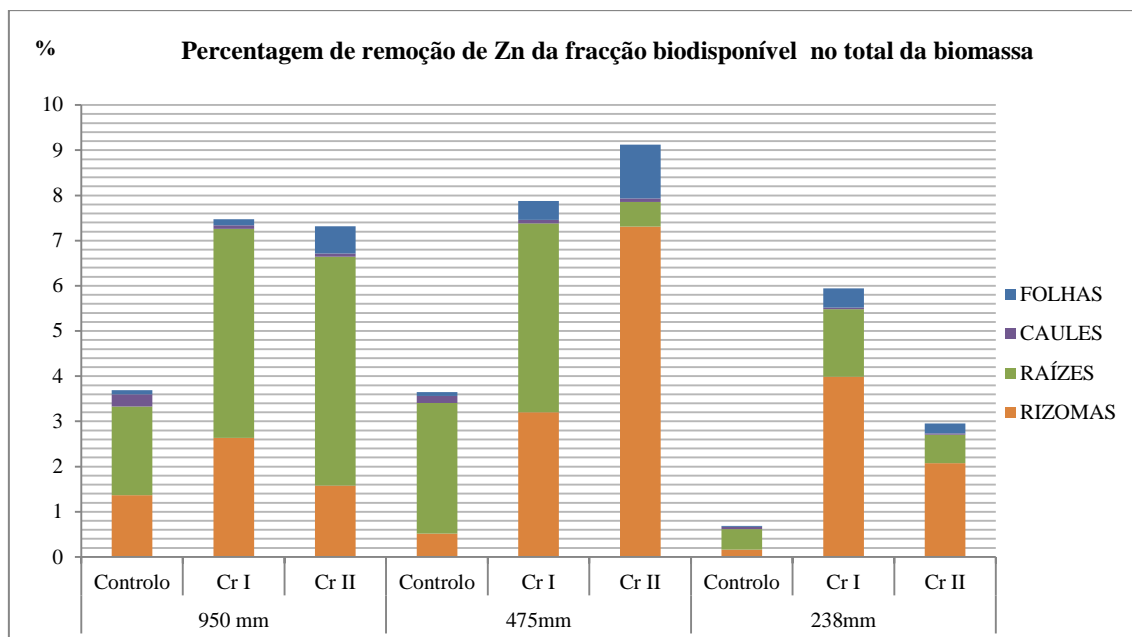
**Figura 6.67:** Fitoextração de crómio utilizando *A. donax* L.

Observa-se maior transferência de crómio para as folhas que para os caules. A extracção de crómio é maior nas amostras que cresceram em solos com maiores teores de crómio (mais contaminadas). Os resultados de fitoextracção são superiores a 600 mg Cr.kg<sup>-1</sup> (Cr II) no solo e a 475 mm de fornecimento hídrico (15 mg Cr.kg<sup>-1</sup>), e não a 950 mm como no total acumulado na biomassa. As plantas extraem ainda 12 mg Cr.kg<sup>-1</sup> a 475 mm e 4 mg Cr.kg<sup>-1</sup> a 238 mm. Nem sempre, as plantas seguem a tendência de aliar maiores extracções de zinco nas componentes aéreas quando o fazem nas componentes subterrâneas. Em termos percentuais (**Figura 6.68**) e tendo como referência o total de crómio presente no solo, percebe-se que a extracção deste metal foi inferior à registada no caso do zinco, e portanto, como se tinha verificado no caso desse metal, também aqui se verificam acumulações de crómio pouco significativas.



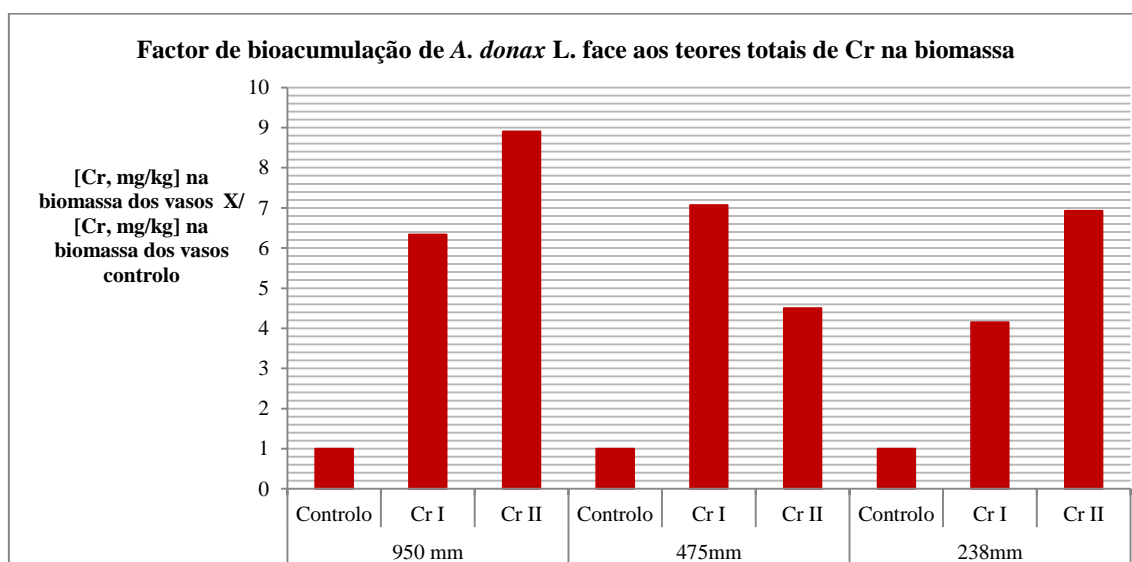
**Figura 6.68:** Percentagem de remoção (%) de crómio da fracção total do solo.

De facto, o máximo que o total da biomassa acumula nas suas diferentes componentes, face à fracção total de Cr no solo, ronda os 0.2% nos solos com contaminação CrI a 950 mm. Contudo, as plantas não acedem à totalidade desse crómio presente no solo, pelo que se investiga de seguida a remoção promovida pelas diferentes componentes das plantas relativamente à fracção biodisponível de crómio no solo (**Figura 6.69**).



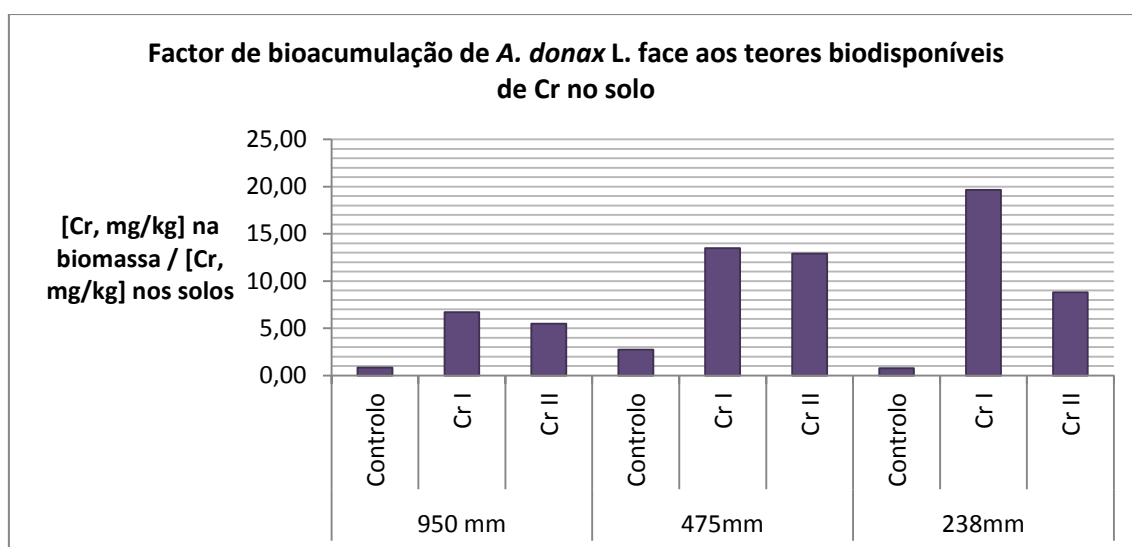
**Figura 6.69:** Percentagem de remoção (%) de crómio da fracção biodisponível do solo.

Face aos teores de crómio biodisponíveis no solo verifica-se que a amostra Cr II a 475 mm consegue acumular cerca de 9% no total de biomassa, e 1% na aérea (para a mesma amostra). As maiores percentagens de acumulação de crómio na biomassa foram atingidas no regime de fornecimento hídrico intermédio. A **Figura 6.70** apresenta os factores de bioacumulação do total da biomassa face à acumulação de crómio no controlo, de acordo com o primeiro pressuposto referido por Peterson (1971).



**Figura 6.70:** Factor de bioacumulação de crómio no total da biomassa de *A. donax* L. levando em conta a fracção de crómio nos vasos controlo.

No tocante aos factores de bioacumulação relativos ao total de crómio presente na biomassa (**Figura 6.70**) percebe-se que os resultados são superiores aos obtidos na experiência de zinco e sempre superiores à unidade. Todos os resultados para as amostras contaminadas com Cr apresentam factores de bioacumulação superiores a 4. Este é o número de vezes mínimo que esta biomassa consegue acumular em relação ao respectivo controlo. O valor é elevado independentemente em ambas as concentrações de crómio no solo e em todos os regimes de fornecimento hídrico, sendo maiores a 950 mm para a amostra Cr II (9). A **Figura 6.71** mostra a bioacumulação face à quantidade de Cr no solo.

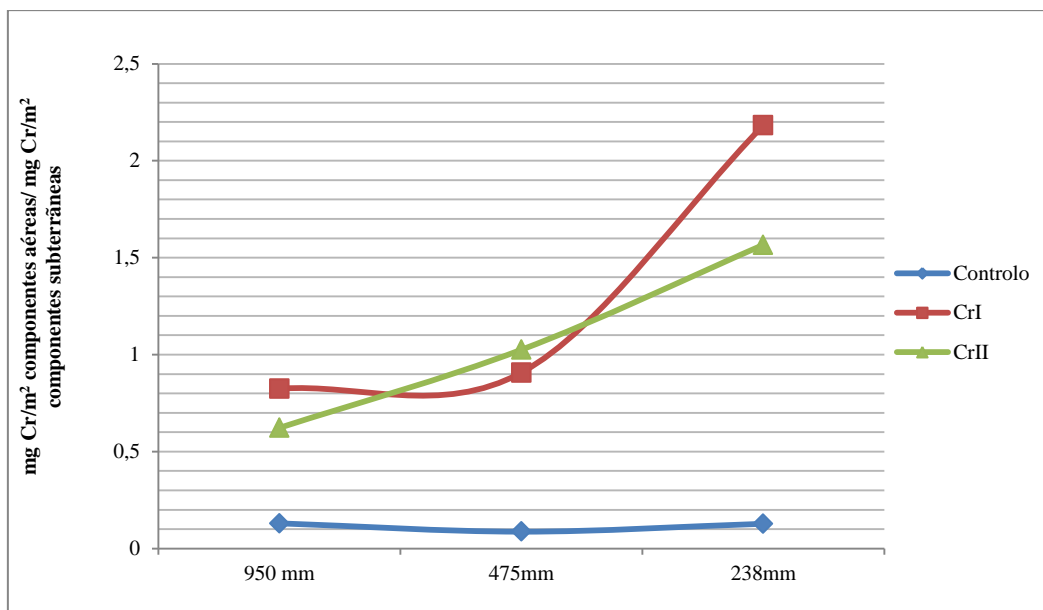


**Figura 6.71:** Factor de bioacumulação de crómio no total da biomassa de *A. donax* L. levando em conta a fracção biodisponível de crómio do solo.

Como os valores de concentração de Cr na biomassa são sempre mais elevados que os valores de Cr biodisponível nos solos, verifica-se a capacidade fitorremediadora do *Arundo*. Pode depreender-se desta análise que este parâmetro é sempre mais elevado para plantas que cresceram sob solos contaminados com crómio que nos respectivos controlos, o que por si só revela a capacidade de fitorremediação das plantas, pois nos controlos a fracção biodisponível de crómio é muito inferior que nos solos contaminados com este metal.

A **Figura 6.72** apresenta as razões entre os teores de crómio acumulados nas componentes aéreas e os acumulados nas subterrâneas de modo a perceber se os nossos resultados na experiência do crómio apontam para a translocação desse metal para as componentes aéreas da biomassa.





**Figura 6.72:** Razão entre o teor de crômio ( $\text{mg Cr/m}^2$ ) acumulado nas componentes aéreas e os teores de crômio ( $\text{mg Cr/m}^2$ ) acumulados nas componentes subterrâneas da biomassa.

Essa razão é sempre inferior a 1 para o controlo, a todos os regimes de fornecimento hídrico. O mesmo ocorre para as amostras contaminadas no nível de fornecimento hídrico superior, mas a razão aproxima-se de 1 a 475 mm na Cr I e ultrapassa esse valor na Cr II. A 238 mm, as amostras Cr I e Cr II apresentam razões entre o teor de crômio ( $\text{mg Cr/m}^2$ ) acumulado nas componentes aéreas e os teores de crômio ( $\text{mg Cr/m}^2$ ) acumulados nas componentes subterrâneas da biomassa superiores a 1, pelo que pode afirmar-se que ocorre translocação de crômio para as componentes aéreas, sobretudo a CrI, onde a razão é maior.

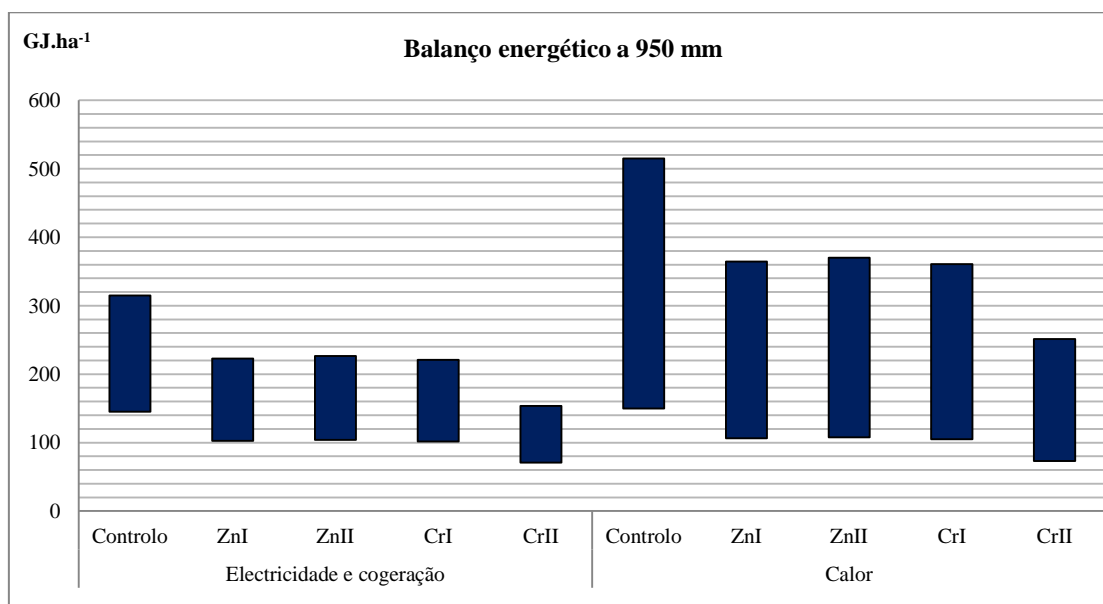
Assim, pode afirmar-se que a planta pode ser usada na fitoestabilização de zinco no solo, ao nível das suas componentes subterrâneas e na fitoextração de crômio, em solos e sob condições como as testadas nos nossos ensaios.

## 6.8 Avaliação do impacte associado à produção de *A. donax* L. em solos contaminados com Zn/Cr

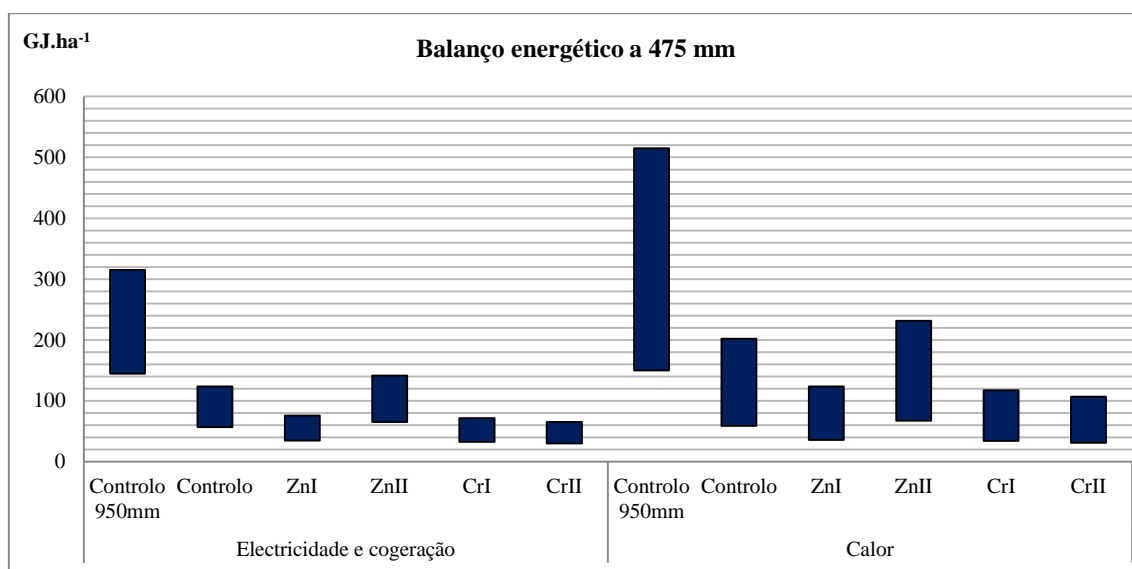
Neste ponto apresenta-se uma análise de impacte da produção de *A. donax* L. em solos contaminados com Zn e de seguida em relação ao Cr. A análise baseia-se nas metodologias utilizadas por Biewinga e van der Bijl (1996), Fernando e Oliveira (2001) e Fernando et al. (2010b). Os cálculos dos diversos parâmetros apresentados para todos os tratamentos a 475 e a 238 mm, levam em conta as produtividades máximas obtidas nos nossos ensaios, no caso, a 950 mm.

### 6.8.1 Balanço energético

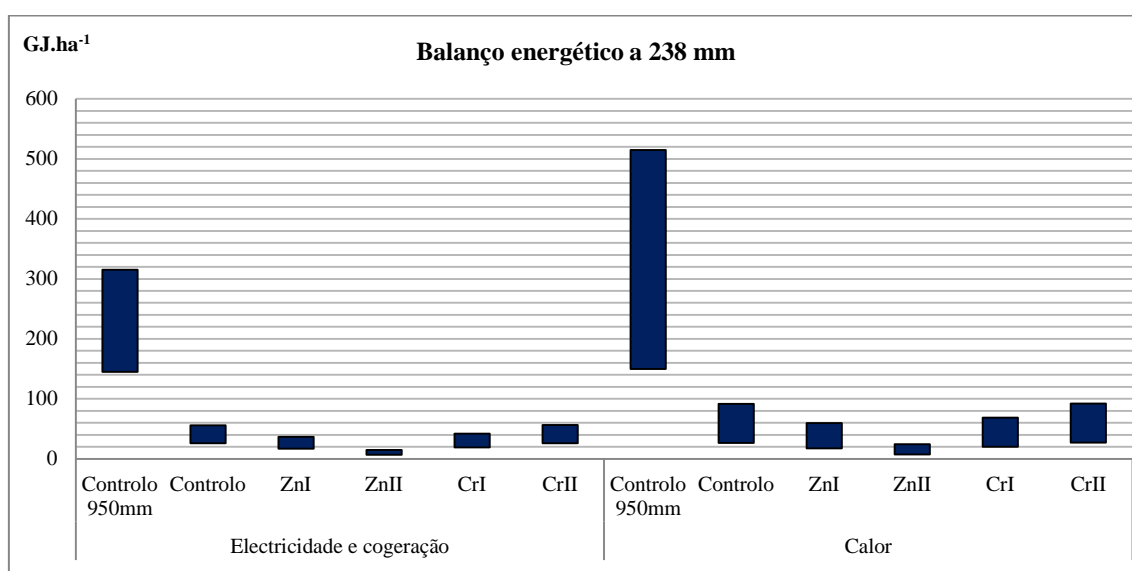
O balanço energético da espécie vegetal em estudo está baseado nos resultados de Cherubini et al. (2009) e em dois cenários: 1) a biomassa de caules é utilizada para a produção de calor a partir da combustão de *A. donax* L., salvando-se 150-515 GJ.ha<sup>-1</sup> que seriam consumidos por fontes fósseis como o carvão e gás natural; 2) a biomassa de caules é utilizada na produção de electricidade e calor por cogeração, salvando-se 145-315 GJ.ha<sup>-1</sup> que seriam consumidos por fontes fósseis como o carvão e gás natural. As produtividades obtidas em cada nível de fornecimento hídrico foram depois extrapoladas para a mesma unidade de área de modo a poder-se obter um enquadramento dos mínimos e máximos de energia para cada um dos cenários. As **Figura 6.73**, **6.74** e **6.75** apresentam o balanço energético para os dois usos dos caules estudados, nos níveis de fornecimento hídricos de 950, 475 e 238 mm, respectivamente.



**Figura 6.73:** Balanço energético estimado (GJ.ha<sup>-1</sup>) para diferentes usos dos caules de *A. donax* L. a 950 mm.



**Figura 6.74:** Balanço energético estimado ( $\text{GJ.ha}^{-1}$ ) para diferentes usos dos caules de *A. donax* L. a 475 mm.



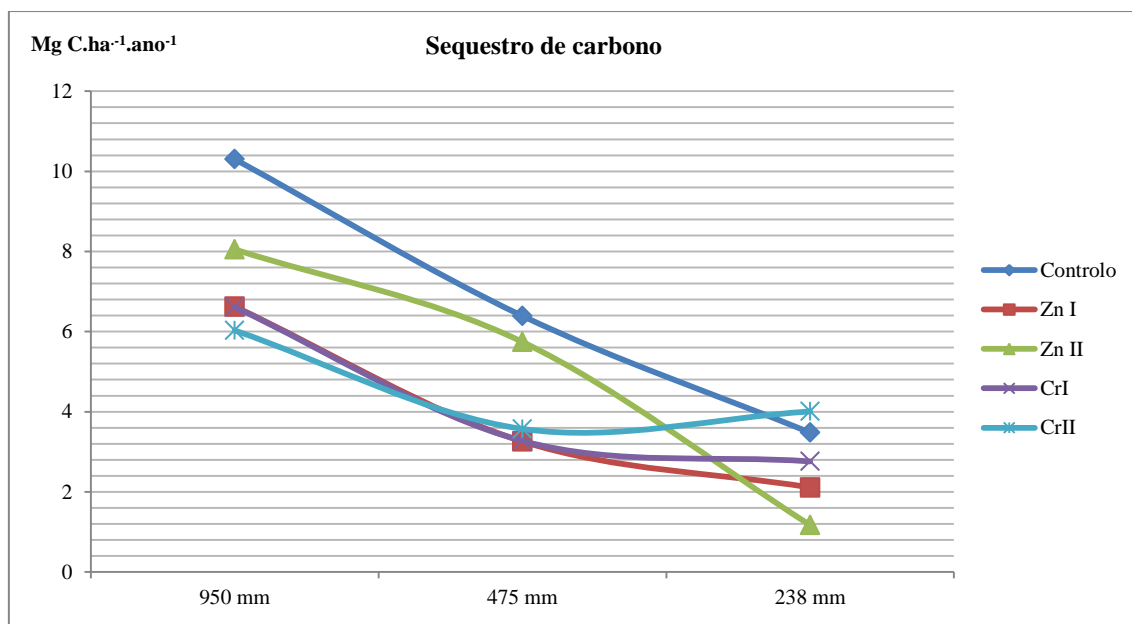
**Figura 6.75:** Balanço energético estimado ( $\text{GJ.ha}^{-1}$ ) para diferentes usos dos caules de *A. donax* L. a 238 mm.

Em todos os regimes de fornecimento hídrico o balanço energético é sempre superior no cenário em que os caules são usados na produção de calor para todas as amostras. Nenhuma das amostras contaminadas com Zn ou Cr apresenta balanços superiores aos dos respectivos controlos. Os controlos a 950 mm apresentam balanços energéticos mais positivos que os controlos a outros regimes de fornecimento hídrico. Os melhores resultados em termos de balanço energético, quer na experiência de Zn quer na de Cr, em que os caules são aproveitados para electricidade e cogeração, são obtidos a 950 mm. Na amostra ZnII salvam-se  $226 \text{ GJ.ha}^{-1}$  e

na amostra CrI salvam-se 221 GJ.ha<sup>-1</sup> que seriam consumidos por fontes fósseis como o carvão e gás natural. No cenário em que os caules são aproveitados para a produção de calor por combustão, os balanços energéticos são também superiores a 950 mm, podendo salvar-se 370 GJ.ha<sup>-1</sup> quando são produzidos em solos contaminados com zinco (ZnII) e 361 GJ.ha<sup>-1</sup> quando produzidos em solos contaminados com crómio (CrI).

## 6.8.2 Sequestro de carbono da atmosfera

O sequestro de carbono da atmosfera (Mg C.ha<sup>-1</sup>) para o solo, foi calculado assumindo um conteúdo de 48.7% em C para toda a planta (Vassilev et al., 2010) e produtividades de campo de 39.4 Mg.ha<sup>-1</sup> (matéria seca) referidas por Mantineo et al. (2009). De seguida, a relação obtida para o total de carbono sequestrado (Mg C.ha<sup>-1</sup>) foi extrapolada para os nossos resultados, obtidos em vasos, e em detalhe para as folhas. Assume-se que após o corte das plantas, os caules são aproveitados para a produção de energia para calor ou para energia eléctrica e calor por cogeração, como referido no ponto anterior, e as folhas regressam ao solo, sem qualquer aproveitamento. Dessa forma, todo o carbono sequestrado da atmosfera pelas folhas, assume-se aqui, é incorporado no solo. O sequestrado pelos caules, regressa à atmosfera por combustão. A **Figura 6.76** apresenta os resultados para o sequestro de carbono da atmosfera / incorporação de C nas folhas da espécie *A. donax* L, em cada tratamento e para cada regime de fornecimento hídrico.

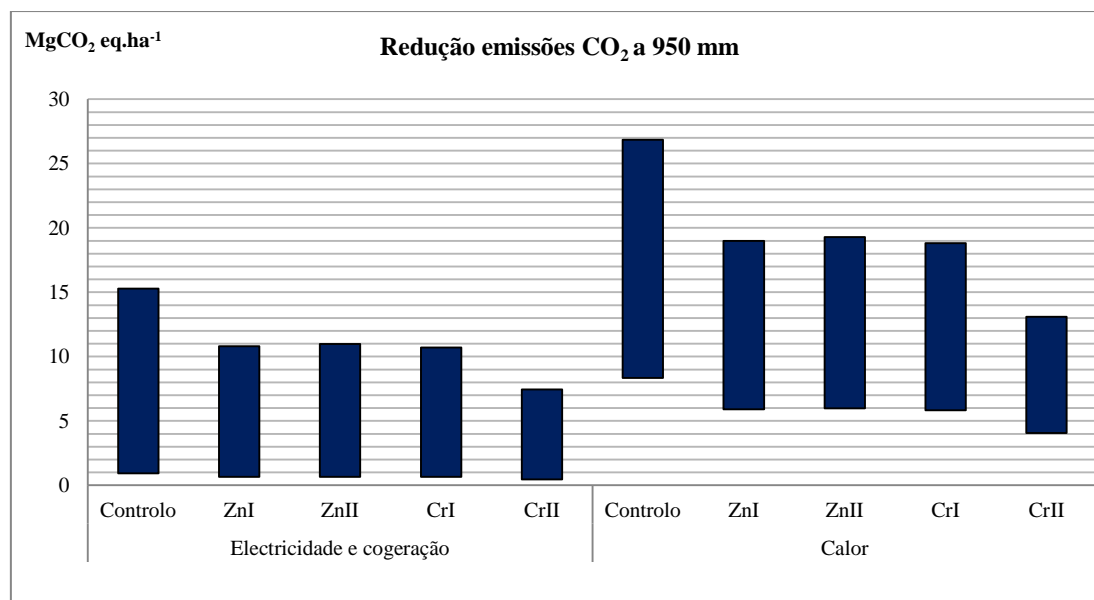


**Figura 6.76:** Sequestro de C (Mg C.ha<sup>-1</sup>) pelas folhas de *A. donax* L.

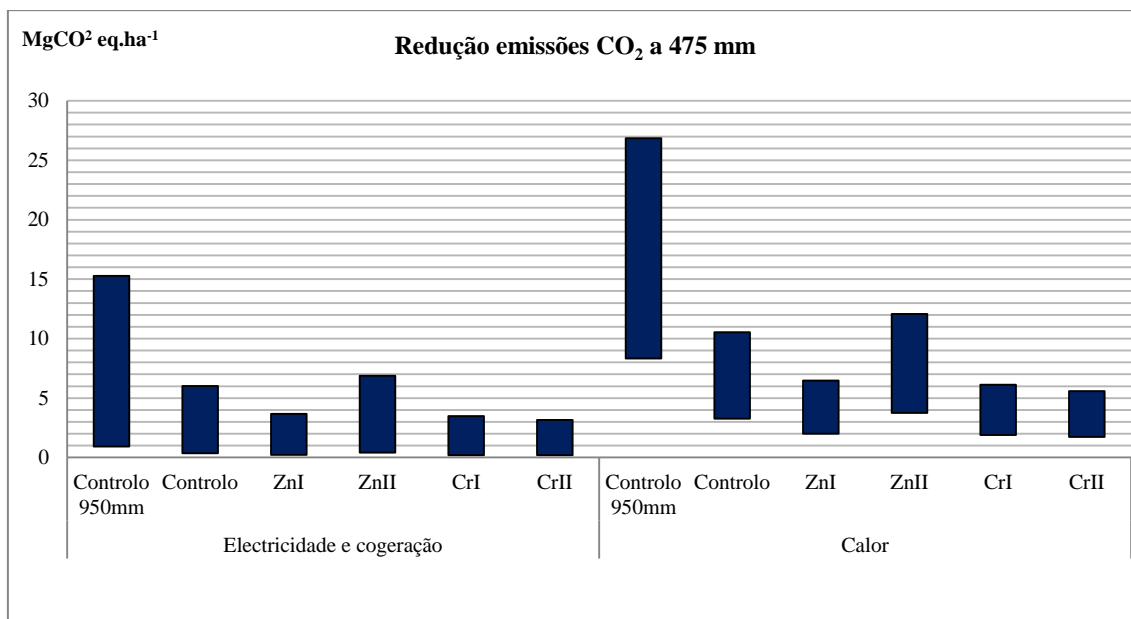
Registam-se maiores sequestros de carbono da atmosfera ( $\text{Mg C.ha}^{-1}\text{ano}^{-1}$ ) a 950 mm que nos restantes regimes de fornecimento hídrico, e a tendência é sempre de decréscimo, para a maioria das amostras, dos níveis de fornecimento hídricos superiores, para os intermédios, e por fim para os mais baixos. Para a amostra Cr II, verifica-se que o sequestro de C pelas folhas aumenta de 475 para 238 mm, embora não de forma muito significativa. Os resultados do sequestro de carbono obtidos na experiência de Cr mas também na de Zn podem não estar a considerar o potencial pleno da planta, uma vez que também as componentes subterrâneas da biomassa de *A. donax* L. podem contribuir para o sequestro de  $\text{CO}_2$  da atmosfera (Monti e Zatta, 2009).

### 6.8.3 Redução de emissões de dióxido de carbono

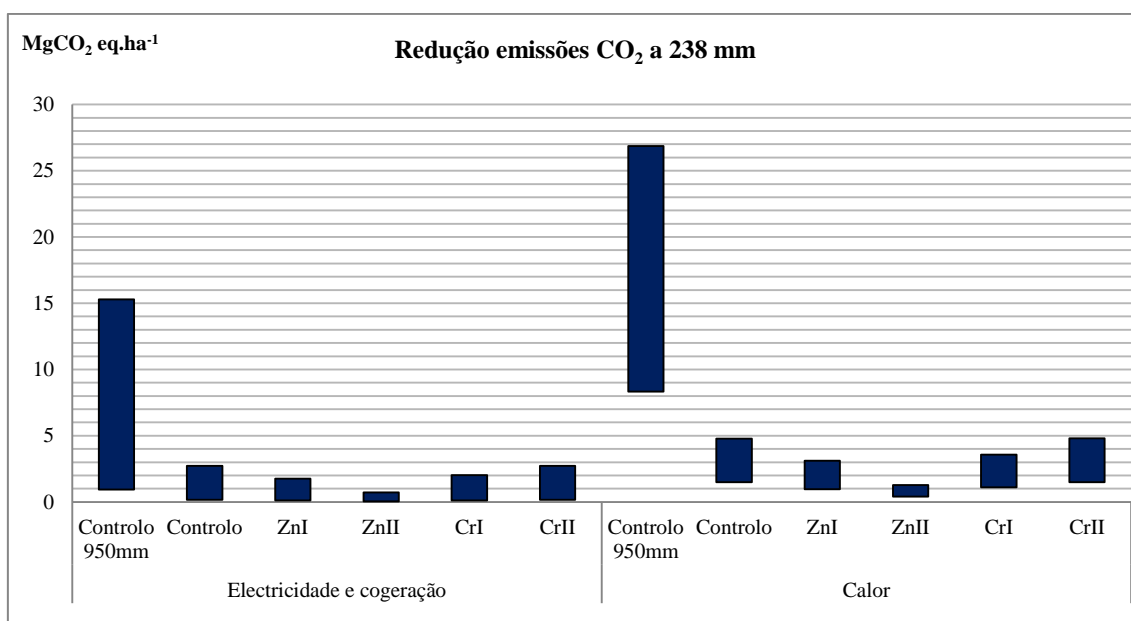
Neste ponto calcula-se a redução de emissões de dióxido de carbono na atmosfera. Baseamos os cálculos nos resultados de Cherubini et al. (2009) e, também para este caso, construímos dois cenários: 1) a biomassa de caules é utilizada para a produção de calor a partir da combustão de *A. donax* L., salvando-se, por essa via, 18-58  $\text{Mg CO}_2\text{-eq.ha}^{-1}$  que seriam emitidos por fontes fósseis como o carvão e gás natural; 2) a biomassa de caules é utilizada na produção de electricidade e calor por cogeração, salvando-se, por essa via, 2-33  $\text{Mg CO}_2\text{-eq.ha}^{-1}$  que seriam emitidos por fontes fósseis como o carvão e gás natural. As **Figuras 6.77, 6.78 e 6.79** apresentam as reduções do sequestro de dióxido de carbono ( $\text{Mg CO}_2\text{-eq.ha}^{-1}$ ) para três regimes de fornecimento hídrico testados.



**Figura 6.77:** Redução das emissões de  $\text{CO}_2$  ( $\text{Mg CO}_2\text{-eq.ha}^{-1}$ ) a 950 mm.



**Figura 6.78:** Redução das emissões de CO<sub>2</sub> (Mg CO<sub>2</sub>-eq.ha<sup>-1</sup>) a 475 mm.

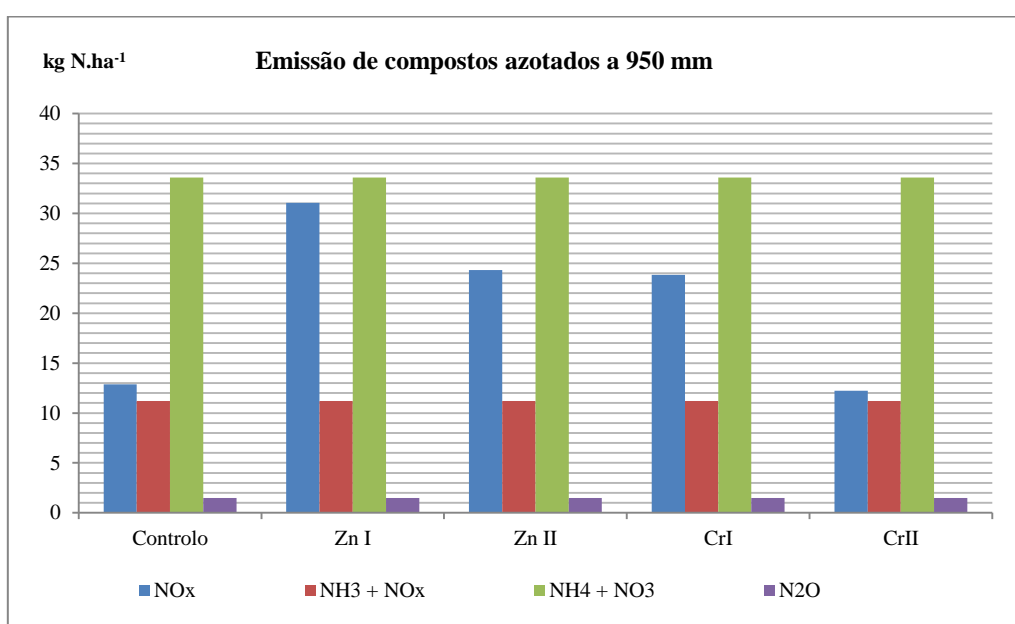


**Figura 6.79:** Redução das emissões de CO<sub>2</sub> (Mg CO<sub>2</sub>-eq.ha<sup>-1</sup>) a 238 mm.

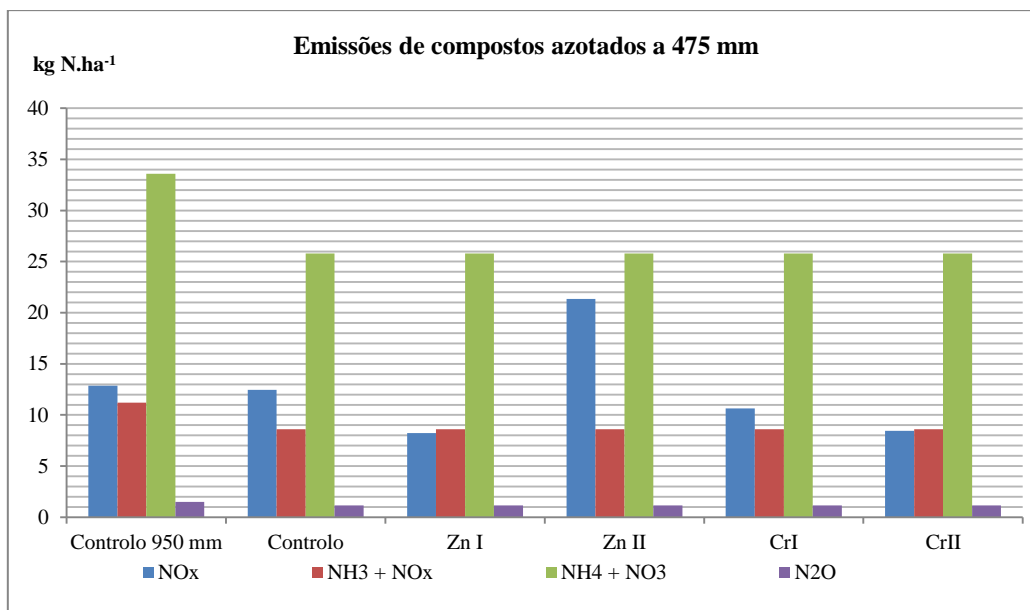
Percebe-se que o cenário de produção de calor não só apresenta um maior balanço energético que o cenário de utilização dos caules de *A. donax* L. para electricidade e calor por cogeração, como também conduz a superiores reduções de emissões de dióxido de carbono da atmosfera, sobretudo a 950 mm, mas também nos restantes regimes de fornecimento hídrico. Amostras ZnII e CrII conseguem reduzir cerca de 19 Mg CO<sub>2</sub>-eq.ha<sup>-1</sup> que seriam emitidos por fontes fósseis como o carvão e gás natural a 950 mm, mas também 12 e 6 Mg CO<sub>2</sub>-eq.ha<sup>-1</sup>, para iguais amostras, a 475 mm, no cenário em que os caules seriam utilizados para a produção de calor.

#### 6.8.4 Redução de emissões de outros gases

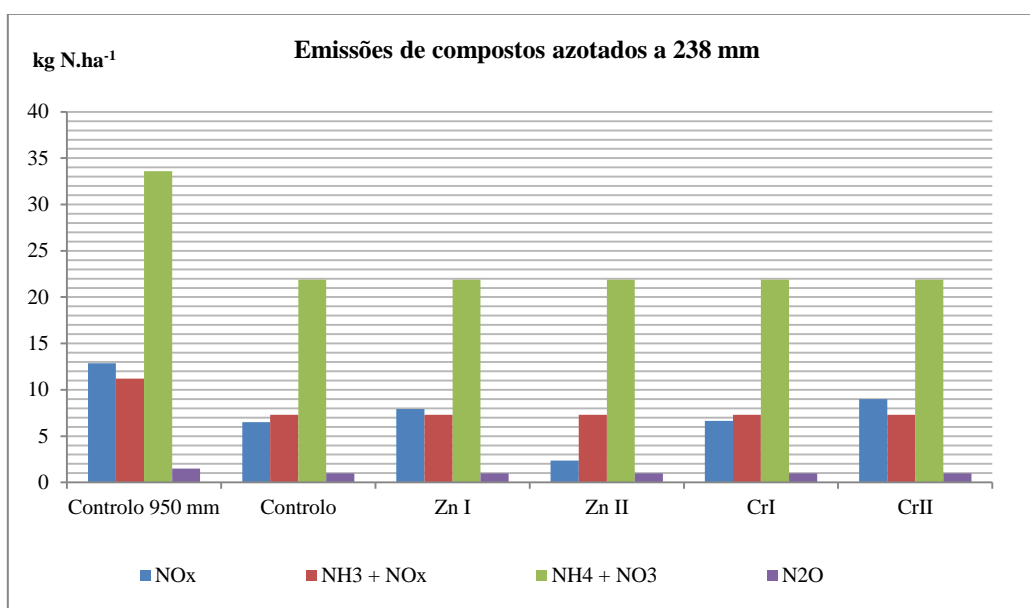
De acordo com o IPCC (2006) 10% do total de azoto aplicado aos solos via fertilização é volatilizado na forma de  $\text{NH}_3$  e  $\text{NO}_x$ , 30% na forma de  $\text{NH}_4$  e  $\text{NO}_3$  e 1% convertido em  $\text{N}_2\text{O}$ . Cerca de 0.75% do total que é volatilizado na forma de  $\text{NH}_3$  e  $\text{NO}_x$  é depois convertido a  $\text{N}_2\text{O}$ . Neste ponto, após determinadas as concentrações de azoto introduzidas nos vasos apresentam-se os resultados das emissões de  $\text{NO}_x$  (supondo a sua libertação na combustão da biomassa),  $\text{NH}_3+\text{NO}_x$ ,  $\text{NH}_4+\text{NO}_3$  e  $\text{N}_2\text{O}$  nos diferentes tipos de solos em que o *A. donax* L. foi produzido nos diferentes regimes de fornecimento hídrico. As **Figuras 6.80, 6.81 e 6.82** apresentam os resultados dessas emissões para os diferentes regimes de fornecimento hídrico.



**Figura 6.80:** Emissões de  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NH}_3+\text{NO}_x$ ,  $\text{NH}_4+\text{NO}_3$  e  $\text{N}_2\text{O}$  ( $\text{kg N.ha}^{-1}$ ) a 950 mm.



**Figura 6.81:** Emissões de NO<sub>x</sub>, NH<sub>3</sub>+NO<sub>x</sub>, NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> e N<sub>2</sub>O (kg N.ha<sup>-1</sup>) a 475 mm.

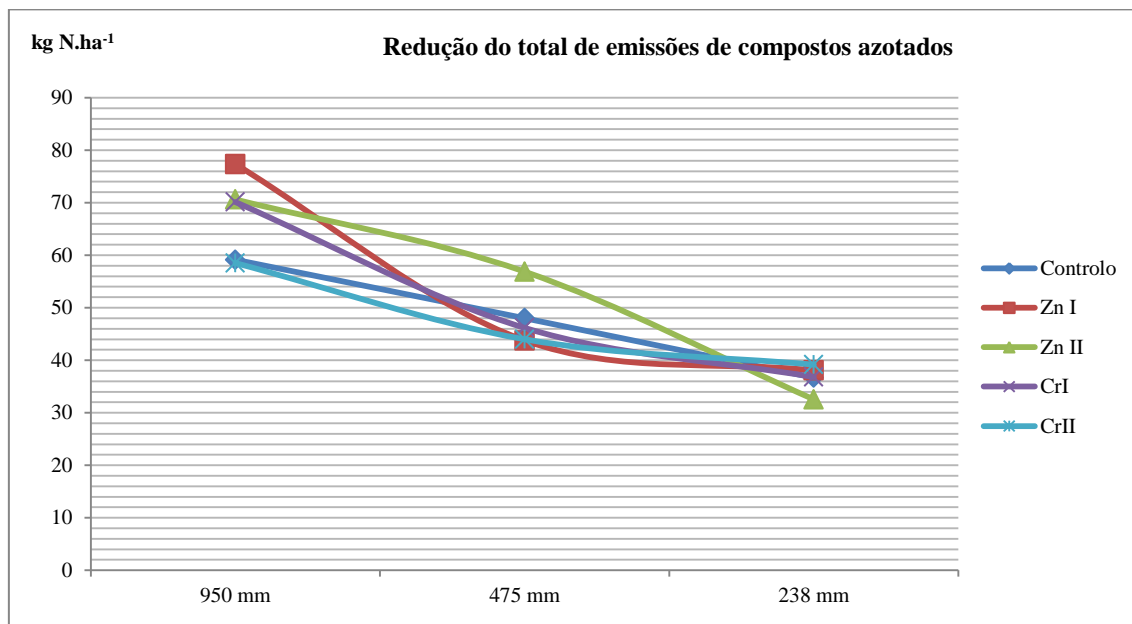


**Figura 6.82:** Emissões de NO<sub>x</sub>, NH<sub>3</sub>+NO<sub>x</sub>, NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> e N<sub>2</sub>O (kg N.ha<sup>-1</sup>) a 238 mm.

Observa-se que as emissões de todos os compostos de forma individual são superiores a 950 mm, uma vez que maior biomassa de *A. donax* L. foi produzida nesse regime de fornecimento hídrico, reduzindo a 475 mm e ainda mais a 238 mm. As maiores emissões ocorrem para o NH<sub>4</sub>+NH<sub>3</sub>. As plantas crescidas em solos contaminados com zinco emitem cerca de 31.1 kg de N.ha<sup>-1</sup> de NO<sub>x</sub>, 11.2 kg de N.ha<sup>-1</sup> de NH<sub>3</sub>+NO<sub>x</sub>, 33.6 kg de N.ha<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> e 1.5 kg de N.ha<sup>-1</sup> de N<sub>2</sub>O. As plantas crescidas em solos contaminados com crómio emitem cerca de 23.8 kg de N.ha<sup>-1</sup> de NO<sub>x</sub>, 11.2 kg de N.ha<sup>-1</sup> de NH<sub>3</sub>+NO<sub>x</sub>, 33.6 kg de N.ha<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub>+NO<sub>3</sub> e 1.5 kg de N.ha<sup>-1</sup> de N<sub>2</sub>O. A **Figura 6.83** apresenta os somatórios das emissões totais de todos os compostos



estudados anteriormente, expresso na mesma unidade ( $\text{kg de N.ha}^{-1}$ ) em cada uma das condições de solo e fornecimento hídrico testados.



**Figura 6.83:** Emissões totais de  $\text{NO}_x$ ,  $\text{NH}_3+\text{NO}_x$ ,  $\text{NH}_4+\text{NO}_3$  e  $\text{N}_2\text{O}$  ( $\text{kg N.ha}^{-1}$ ) para os diferentes tratamentos e regimes de fornecimento hídrico.

Para todos os tratamentos, a tendência é de decréscimo no valor das emissões gasosas de compostos azotados, facto relacionado com as maiores produtividades das plantas de *A. donax* L. alcançadas a regimes de fornecimento hídrico superiores (que como vimos anteriormente são os ideais para o desenvolvimento das plantas). Observa-se que para o tipo de solos CrII, ocorrem sempre menores emissões gasosas que o controlo, mas a 238 mm parece haver uma ligeira inversão dessa tendência. As plantas que crescem em solos contaminados com zinco envolvem maiores emissões de compostos azotados que as plantas dos controlos e as crescidas em solos contaminados com crómio.

### 6.8.5 Avaliação global do impacte da produção de *A. donax* L. em solos contaminados com Zn ou Cr

Cada um dos aspectos analisados neste ponto foi considerado como um critério individual de igual importância numa escala de avaliação de impacte global da produção de *A. donax* L. em solos contaminados com Cr ou Zn, baseados na classificação definida no **Quadro 6.61**. Uma vez que a emissão dos compostos azotados traduz um impacte negativo, a escala de avaliação de impacte definida pelo Quadro 6.61 é aplicada a este critério de forma inversa, onde as percentagens de efeito relativamente ao controlo maiores que 100% assumem a escala (-),

enquanto as percentagens de efeito relativamente ao controlo inferiores a 100% assumem a escala (+).

**Quadro 6.61:** Escala de avaliação de impacto.

Percentagem de efeito relativamente ao controlo	100 - 125	125 - 150	>150
Escala de impacto	+1	+2	+3
Percentagem de efeito relativamente ao controlo	100 - 75	75 - 50	<50
Escala de impacto	-1	-2	-3

O **Quadro 6.62** apresenta os resultados do impacto produzido por cada critério avaliado. A escala estabelece a comparação dos resultados das percentagens correspondentes a cada tratamento em comparação com os controlos a 950 mm.

**Quadro 6.62:** Classificação do impacto resultante da produção de *A. donax* L. em solos contaminados com Zn ou Cr para cada critério em avaliação.

	950 mm					475 mm					238 mm				
	Ctr	ZnI	ZnI I	CrI	CrII	Ctr	ZnI	ZnI I	CrI	CrII	Ctr	ZnI	ZnI I	CrI	CrII
Produção de energia	0	-2	-2	-2	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3
Sequestro de carbono	0	-2	-1	-2	-2	-2	-3	-2	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3
Gases de efeito de estufa	0	-2	-2	-2	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3	-3
Emissão de compostos azotados	0	-2	-1	-1	1	1	2	1	1	2	2	2	2	2	2

Em termos de impacto global, o cenário mais favorável é o da produção de *A. donax* L. em solos contaminados com 450 mg Zn.kg<sup>-1</sup> (ZnI) a 950 mm. O regime de fornecimento hídrico superior traduz resultados mais negativos no que diz respeito à emissão de compostos azotados para a atmosfera, sobretudo em solos contaminados com zinco. Curiosamente, sob solos contaminados a CrII, esse impacto nunca foi negativo, a nenhum dos regimes de fornecimento hídrico testados. Em termos de redução das emissões de gases com efeitos de estufa, sequestro de carbono e balanço energético, nenhum dos tratamentos consegue igualar o valor conseguido no controlo a 950 mm. Para estes critérios verifica-se um efeito dominante das produtividades. A menores produtividades obtidas nos regimes de fornecimento hídrico inferiores, obtém-se obrigatoriamente valores de impacto negativo superiores. Entre tratamentos, não se verificam grandes diferenças assinaláveis na classificação, sobretudo a 238 mm (onde não há mesmo diferenças). Os regimes de fornecimento hídrico exercem uma influência mais significativa nos resultados obtidos em cada um desses critérios que as diferenças de concentração para cada

metal no solo. Comparando de uma forma global, os efeitos entre metais para cada nível de irrigação, os impactes globais são semelhantes a 950 mm, o crómio parece exercer maior efeito nos critérios estabelecidos a 475 mm e o zinco a 238 mm.

## 7. Considerações finais

O presente trabalho pretende dar um contributo para o estudo das potencialidades da espécie *A. donax* L. na fitorremediação de solos contaminados com os metais pesados Zn ou com Cr. Para tal foi conduzido um conjunto de ensaios realizado em vasos, onde foram colocados rizomas desta espécie, em solos contaminados produzidos artificialmente com LRI's. As lamaz utilizadas na produção dos solos contaminados com zinco apresentavam carácter muito tóxico e teores de zinco muito superiores ao valor limite máximo referido nas normas. Também as lamaz utilizadas na contaminação artificial de solos com Cr apresentavam teores em crómio muito elevados, embora se classifiquem como não tóxicas. Os tratamentos de zinco afectaram as plantas ao nível do número de caules por vaso (1º ano), distância de entrenós (2º ano) e índice de área foliar (2º ano). Ao nível dos parâmetros biométricos da experiência de zinco, é mais proeminente o efeito dos diferentes regimes de fornecimento hídrico que dos tratamentos com Zn, principalmente durante o segundo ciclo de crescimento das plantas. De facto, nesse ano, as diferentes disponibilidades hídricas afectaram todos os parâmetros biométricos das plantas, com excepção do nº de caules por vaso e comprimento da maior raiz. Nenhum dos parâmetros biométricos de *A. donax* L. foi afectado (de forma estatisticamente significativa) pelos tratamentos com Cr, facto que exprime uma elevada tolerância da espécie ao tipo de solo contaminado com lamaz de crómio com as características testadas e analisadas neste trabalho. De facto, nesta experiência, os parâmetros biométricos foram somente afectados de forma estatisticamente significativa pelos diferentes regimes de fornecimento hídrico. O facto das LRI's contendo Cr não serem tóxicas não é contudo a única justificação para o sucesso da planta, uma vez que poucos são também os parâmetros biométricos afectados na presença das lamaz de Zn, que eram muito tóxicas. As baixas mobilidades e fracas biodisponibilidades do Cr no solo, quando comparadas com as de Zn, mais móvel, podem ajudar na compreensão destes resultados, mas também a elevada resistência e tolerância da espécie à presença de metais pesados. Seria interessante estudar de forma mais aprofundada que características fisiológicas/genéticas permitem a esta espécie tal tolerância/ adaptabilidade a este tipo de ambiente.

No que respeita às produtividades, quer na experiência do zinco quer na do crómio, verifica-se que, são sobretudo as diferentes disponibilidades hídricas que condicionam os resultados das produtividades (de forma estatisticamente significativa). Os tratamentos com Zn parecem afectar os resultados da produtividade dos caules (1º ano). O mesmo parâmetro é mais afectado no segundo ano pelos regimes de fornecimento hídrico. As produtividades dos caules são superiores no segundo ano, altura em que as plantas estavam mais estabelecidas nas condições dos ensaios. Os tratamentos com zinco não afectam as produtividades de mais nenhuma estrutura das plantas. Os tratamentos com crómio afectam os resultados das produtividades das

folhas, mas não afectam as produtividades das restantes componentes das plantas. Os regimes de fornecimento hídrico afectam de forma mais proeminente os resultados das experiências de zinco e de crómio. Globalmente verifica-se que o *A. donax* L., nas condições dos nossos ensaios, dá preponderância às estruturas subterrâneas, facto que também ocorre em populações naturais em campo, aliando a maiores produtividades maior acumulação de reservas de nutrientes. As maiores produtividades são também alcançadas a regimes de fornecimento hídricos superiores. Verifica-se um efeito positivo do fornecimento de maiores volumes de água na produtividade das diferentes componentes de *A. donax* L., independentemente dos tratamentos metálicos com Zn ou Cr. Maiores volumes hídricos proporcionam maior absorção de nutrientes na parte aérea assim como maiores LAI, facto que favorece maior produção fotossintética e de biomassa nas plantas. Os melhores resultados em termos de produtividades são obtidos pela amostra controlo a 950 mm, e dentre as amostras contaminadas, na ZnII a 475 mm (produtividade global). Contudo, em termos de produtividades aéreas, e exceptuando o controlo em II, verifica-se que as amostras ZnI e ZnII apresentam as maiores produtividades dos ensaios, sobretudo no segundo ciclo de crescimento: 523 e 584 g.m<sup>-2</sup>, respectivamente. Na experiência de Cr, as maiores produtividades nas amostras contaminadas são obtidas na amostra CrI a 950 mm (459 g.m<sup>-2</sup>) e na CrII a 238 mm (507 g.m<sup>-2</sup>), no segundo ano, onde as maiores disponibilidades hídricas prevaleceram sobre os tratamentos com Cr condicionando (positivamente) os resultados das produtividades. Seria interessante averiguar quais são os limites máximos de tolerância da espécie no que concerne a contaminação de Zn e Cr no solo, assim como o estudo do efeito combinado de ambos os metais.

Detectamos elevados teores de cinzas (%) na biomassa de *A. donax* L. das amostras contaminadas com Zn e com Cr, facto que envolve a produção de compostos gasosos nocivos para o ambiente quando submetida a combustão, não sendo por isso interessante do ponto de vista da produção de bioenergia. De facto, esta biomassa pode envolver emissões de NH<sub>3</sub>, NO<sub>x</sub>, NH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O, entre outros compostos. Mas a mesma biomassa pode promover o sequestro de CO<sub>2</sub> da atmosfera, sobretudo ao nível das folhas (mais produtivas que os caules). Os teores de cinzas da biomassa, em ambas as experiências, foram maioritariamente influenciados pelos tratamentos metálicos: maiores disponibilidades metálicas nos solos originaram maiores incorporações dos mesmos na biomassa e piores qualidades de biomassa para fins de produção de bioenergia. Note-se que quer nos dados consultados na literatura, mas também obtidos nos nossos controlos, os teores de nutrientes e outros elementos na biomassa de *A. donax* L. são elevados. Portanto, o cultivo de *A. donax* L. em solos contaminados aumenta os teores de elementos na sua biomassa, um resultado já esperado. Os regimes de fornecimento hídrico influenciaram de forma estatisticamente significativa a produção de cinzas no segundo ano ao nível dos caules, mas não dessa forma nas restantes estruturas das plantas. Esse factor não afectou de forma

estatisticamente significativa a experiência do Cr ao nível do teor de cinzas (%). Os valores de lenhina são elevados em todas as amostras, quer na experiência de Zn quer na de Cr, o que pode comprometer o uso desta biomassa para etanol de 2ª geração. Pode ainda comprometer-se o aproveitamento para a produção de papel, por envolver custos acrescidos com operações de deslenhificação. Face aos teores de hemicelulose detectados é possível, contudo, o seu aproveitamento para a produção de etanol. Seria interessante explorar mais a fundo possíveis utilizações da biomassa de *A. donax* L. produzida em solos como os testados nos nossos ensaios, nomeadamente para a produção de bioplásticos, mas também outros bioprodutos.

No que concerne aos resultados da fitorremediação, verifica-se que a planta é sobretudo tolerante aos metais, o que possibilita a sua produção em solos contaminados com Zn e com Cr nas concentrações e condições de solo testadas nos nossos ensaios. O *A. donax* L. não se pode considerar como uma espécie hiperacumuladora de Zn ou Cr, face aos resultados obtidos. Ocorre sobretudo acumulação de Cr e Zn ao nível das raízes e rizomas, e nas componentes aéreas sobretudo ao nível das folhas (mais nas folhas mortas). Percebe-se, contudo, face aos controlos, e aos factores de bioacumulação da biomassa de *A. donax* L. produzida em solos contaminados com Zn ou com Cr que as plantas podem ser usadas na fitoextração desses elementos de solos por ele contaminados. Existe um efeito positivo do fornecimento de água no sucesso de fitoextração. As componentes subterrâneas da biomassa (em conjunto com o solo) promovem a fitoestabilização de elevados teores desses metais ao nível da rizosfera, que dessa forma controlam a sua lixiviação e contaminação de lençóis freáticos. De facto, os teores detectados desses metais nas águas de percolação, ao longo de todo o período de ensaios, foi sempre residual, o que sugere uma elevada retenção pelo sistema radicular em conjunto com o solo. Simultaneamente, a biomassa de raízes, em detalhe, mas também a presença da planta como um todo no solo, promove a incorporação de carbono e matéria orgânica no solo, o que em solos contaminados pode significar o início de um processo de restauração de outras das suas propriedades. Um dos aspectos futuros a explorar no estudo das potencialidades desta espécie na fitorremediação de solos contaminados com Zn e Cr, seria o modo como a espécie pode favorecer o desenvolvimento de outras espécies, que em conjunto com ela, promoveriam comunidades fitorremediadora, assim como tal poderia ser ou não interessante, numa lógica de produção de biomassa, numa lógica de biorefinaria.

Assim, o *A. donax* L. pode ser cultivado, com sucesso, em solos contaminados com Zn, principalmente na concentração ZnI e a II, por envolver maiores produtividades e qualidades de biomassa para fibra e bioenergia, mas também por proporcionar maior extração de Zn dos solos. No caso do Cr, é também a II e na contaminação Cr I que globalmente se reúnem melhores produtividades, qualidades de biomassa e mais elevados teores de Cr na biomassa. A

extracção de Cr é elevada noutros regimes de irrigação, como a 238 mm (e a CrII), mas envolve qualidades inferiores da biomassa. Contudo, nesses regimes de fornecimento hídrico é possível aliar extracções de Cr mais significativas a menores consumos hídricos, sobretudo no segundo ciclo de crescimento quando as plantas estão mais estabelecidas nos solos, o que pode ser importante em regiões escassas em água ou que sofram de processos de desertificação.

## 8. Referências Bibliográficas

- Adejumo, S.A., Togun, A.O., Adediran, J.A., Ogundiran, M.B. (2011) In-Situ Remediation of Heavy Metal Contaminated Soil Using Mexican Sunflower (*Tithonia diversifolia*) and Cassava Waste Composts. *World Journal of Agricultural Sciences*, **7** (2), 224-233.
- Adler, A., Dimitriou, I., Aronsson, P., Verwijst, T., Weih, M. (2008) Wood fuel quality of two *Salix viminalis* stands fertilized with sludge, ash and sludge-ash mixtures. *Biomass and Bioenergy*, **32**, 914-925.
- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., Dauvillier, P. (2000) Análisis nutricional de los alimentos. Tradução espanhola. Editorial Acribia, S.A., Saragoça, Espanha, 292 p.
- Agência Portuguesa do Ambiente (2011). Monitorização do Princípio de Auto-Suficiência, Relatório 2010. Agência Portuguesa do Ambiente (APA), Departamento de Operações de Gestão de Resíduos, Amadora.
- Alloway, B. (1995) *Heavy metals in soils*, Blackie Academic and Professional Publ., Estados Unidos da América, 368 p.
- Andrade, J., Tavares, S., Mahler, C. (2007) *Fitorremediação, o uso de plantas na melhoria da qualidade ambiental*, Oficina de Textos, São Paulo, Brasil, 176 p.
- Angelini, L., Ceccarini, L., Bonari, E. (2005) Biomass yield and energy balance of giant reed (*Arundo donax* L.) cropped in central Italy as related to different management practices. *European Journal of Agronomy*, **22**, 375-389.
- Angelini, L., Ceccarini, L., Nasso, N., Bonari, E. (2009) Comparison of *Arundo donax* L. and *Miscanthus x giganteus* in a long-term field experiment in Central Italy: Analysis of productive characteristics and energy balance. *Biomass and Bioenergy*, **33**, 635-643.
- ANRED (1984) Analyse et caractérisation des déchets industriels. Collection Cahiers Techniques de la Direction de la Prévention des Pollutions n°12, gence Nationale pour la Récupération et l'Élimination des Déchets, Premier Ministre, Secrétariat d'État à l'Environnement et à la Qualité de la Vie, Angers, França, 140 p.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. Volume I, 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, EUA, 1213 p.
- APHA, AWWA e WPCF (1985) Standard Methods for the examination of water and wastewater. 16th Ed. American Public Health Association, American Water Works Association e Water Pollution Control Federation, Washington D.C., EUA, 1268 p.



- Arduini, I., Ercoli, L., Mariotti, M., Masoni, A. (2006a) Response of miscanthus to toxic cadmium applications during the period of maximum growth. *Environmental and Experimental Botany*, **55**, 29-40.
- Arduini, I., Masoni, A., Ercoli, L. (2006b) Effects of high chromium applications on miscanthus during the period of maximum growth. *Environmental and Experimental Botany*, **58**, 234-243.
- Arduini, I., Masoni, A., Mariotti, M., Ercoli, L. (2004) Low cadmium application increase miscanthus growth and cadmium translocation. *Environmental and Experimental Botany*, **52**, 89-100.
- Baize, D. (2000) *Guide des analyses en pedologie*. 2<sup>a</sup> Edição, revista e aumentada. INRA editions, Paris, França, 257 p.
- Baker, A. (1981) Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, **3**, 643-654.
- Baker, A. (1987) Metal tolerance. *New Phytologist*, **106**, 93-111.
- Baker, A., McGrath, S., Reeves, R., Smith, J. (2000) *Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils*. In: Terry N, Bañuelos G, editors. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. USA7 Lewis Publishers.
- Bañuelos, G., Zambruski, S., Mackey, B. (2000) Phytoextraction of Se from soils irrigated with selenium-laden effluent. *Plant and Soil*, **224**, 251-258.
- Barbieri-Junior, E., Rossiello, R.O.P., Morenz, M.J.F. e Ribeiro, R.C. (2010) Comparação de métodos diretos de extração e quantificação dos teores de clorofilas em folhas do capim-Tifton 85, *Ciência Rural*, **3**, 633-636.
- Barbosa, B., Costa, J., Fernando, A.L., Papazoglou, E.G. (2014) Wastewater reuse for fiber crops cultivation as a strategy to mitigate desertification. *Industrial Crops and Products*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.007>
- Barbosa, J., Cabral, T., Ferreira, D., Lima, L., Medeiros, S. (2010) Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **73**, 320-325.
- Barney, J.N., DiTomaso, J.M. (2011) Global Climate Niche Estimates for Bioenergy Crops and Invasive Species of Agronomic Origin: Potential Problems and Opportunities. *PLoS ONE* **6** (3): e17222. doi:10.1371/journal.pone.0017222

- Benjamin, M., Honeyman, B., (1992) Trace Metals. In: Butcher, S., Charlson, R., Orians, G., Wolfe, G. editors. *Global Biogeochemical Cycles*, Academic Press Limited, San Diego, Estados Unidos da América, 361 p.
- Blaylock, M. (2000) *Field Demonstrations of Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils*. In: Terry N, Bañuelos G, editors. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. USA7 Lewis Publishers.
- Biewinga, E., van der Bijl, G. (1996) Sustainability of energy crops in Europe. A methodology developed and applied, Centre for Agriculture and Environment, Utrecht, February, CLM 234, 1996.
- Bonano, G. (2012) *Arundo donax* as a potential biomonitor of trace elemento contamination in water and sediment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **80**, 20-27.
- Bonano, G., Cirelli, G.L., Toscano, A., Giudice, R., Pavone, P. (2013) Heavy metal content in ash of energy crops growing in sewage-contaminated natural wetlands: Potential applications in agriculture and forestry? *Science of the Total Environment*, **452-453**, 349-354.
- Borghi, M., Tognetti, R., Monteforti, G., Sebastiani, L. (2007) Responses of *Populus x euramericana* (*P. deltoids* x *P. nigra*) clone *Adda* to increasing copper concentrations. *Environmental and Experimental Botany*, **61**, 66-73.
- Borin, M., Barbera, A.C., Milani, M., Molari, G., Zimbone, S.M., Toscano, A. (2013) Biomass production and N balance of giant reed (*Arundo donax* L.) under high water and N input in Mediterranean environments. *European Journal of Agronomy*, **51**, 117-119.
- Boularbah, A., Schwartz, C., Bitton, G., Abouddrar, W., Ouhammou, A., Morel, J. (2006) Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. *Chemosphere*, **63**, 811-817.
- Boyd, R. (2007) The defense hypothesis of elemental hyperaccumulation: status, challenges and new directions. *Plant Soil*, **293**, 153-176.
- Bundschuh, J., Nath, B., Bhattacharya, P., Liu, C., Armienta, M., López, M., Lopez, D., Jean, J., Cornejo, L., Macedo, L., Filho, A. (2011) Arsenic in the human food chain: the Latin American perspective. *Science of the Total Environment*, 15 p.
- California Invasive Plant Council (2011) *Arundo donax* (giant reed): Distribution and Impact Report March 2011. State Water Resources Control Board.
- Ceotto, E., Candilo, M. (2010) Shoot cuttings propagation of giant reed (*Arundo donax* L.) in water and moist soil: The path forward? *Biomass and Bioenergy*, **34**, 1614-1623.
- Center for Invasive Species Research (CISR), disponível em:

[http://cirs.ucr.edu/giant\\_reed\\_arundo.html](http://cirs.ucr.edu/giant_reed_arundo.html); consultado em Agosto de 2014.

- Chandra, R., Bharagava, R.N., Yadav, S., Mohan, D. (2009) Accumulation and distribution of toxic metals in wheat (*Triticum aestivum* L.) and Indian mustard (*Brassica campestris* L.) irrigated with distillery and tannery effluents. *Journal of Hazardous Materials*, **162**, 1514-1521.
- Chaney, R., Malik, M., Li, Y., Brown, S., Brewer, E., Angle, J., Baker, A. (1997) Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion Biotechnology*, **8**, 279-284.
- Cherubini, F., Bird, N.D., Cowie, A., Jungmeier, G., Schlamadinger, B., Woess-Gallasch, S. (2009) Energy-and greenhouse gas-based LCA of biofuel and bioenergy systems: Key issues, ranges and recommendations. *Resources, Conservation and Recycling*, **53**, 434-447.
- Chopin, E., Marin, B., Mkoungafoko, R., Rigaux, A., Hopgood, M. (2008) Factors affecting distribution and mobility of trace elements (Cu, Pb, Zn) in a perennial grapevine (*Vitis vinifera* L.) in the Champagne region of France. *Environmental Pollution*, **156**, 1092-1098.
- Christou, M., Mardikis, M., Alexopoulou, E. (2001) Research on the effect of irrigation and nitrogen upon growth and yields of *Arundo donax* L. in Greece. *Aspects of Applied Biology*, **65**, 47-55.
- Clemente, R., Dickinson, N., Lepp, N. (2008) Mobility of metals and metalloids in a multi-element contaminated soil 20 years after cessation of the pollution source activity. *Environmental Pollution*, **155**, 254-261.
- Coleman, D.C. (2001) Soil biota, soil systems and processes. In: Levin, S. (Ed.), *Encyclopedia of Biodiversity*, Vol. 5. Academic Press, San Diego, CA, pp. 305–314.
- Coleman, D.C., Whitman, W.B. (2005) Linking species richness, biodiversity and ecosystem function in soil system. *Pedobiologia*, **49**, 479-497.
- Corral, V., Anderson, C., Lopez, M., Vargas, M., Perez, J. (2011) Phytoextraction of gold and copper from mine tailings with *Helianthus annuus* L. and *Kalanchoe serrata* L. *Minerals Engineering*, **24**, 1488-1494.
- Cosentino, S., Copani, V., D'Agosta, G., Sanzone, E., Mantineo, M. (2006) First results on evaluation of *Arundo donax* L. clones collected in Southern Italy. *Industrial Crops and Products*, **23**, 212-222.
- Cosentino, S. (2014) Management and Yields of *Arundo donax* L. FIBRA Summer School, Lignocellulosic Crops as Feedstock for Future Biorefineries, Lisbon, 26-31 July 2014.

- Cosentino, S.L., Scordia, D., Sanzone, E., Testa, G., Copani, V. (2014) Response of giant reed (*Arundo donax* L.) to nitrogen fertilization and soil water availability in semi-arid Mediterranean environment. *European Journal of Agronomy*, **60**, 22-32.
- Costa, J. (2004) *Caracterização e Constituição do Solo*, Fundação Calouste Gulbenkian, 7ª Edição, Lisboa, Portugal, 527 p.
- Cotana, F., Cavalagio, G., Nicolini, A., Gelosia, M., Coccia, V., Petrozzi, A., Brinchi, L. (2014) Lignin as co-product of second generation bioethanol production from ligno-cellulosic biomass. *Energy Procedia*, **45**, 52-60.
- Cunningham, S., Ow, D. (1996) Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, **110**, 715-719.
- Das, P., Samantaray, Rout, G. (1997) Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, **98**, 29-36.
- Davies, B.E. e Jones, L.H.P. (1992) Micronutrientes y elementos tóxicos. In: Alan Wild (ed) *Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas segun Russell*. Tradução espanhola. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Espanha, pp. 819-854.
- Dauber, J., Brown, C., Fernando, A., Finnan, J., Krasuska, E., Ponitka, J., Styles, D., Thrän, D., Groenigen, K., Weih, M., Zah, R. (2012) Bioenergy from “surplus” land: environmental and socio-economic implications. *BioRisk*, **7**, 5-50.
- Decreto-Lei nº 276/09 (2009) Anexo I, Valores limite de concentração relativos a metais pesados, compostos orgânicos e dioxinas e microrganismos, *Diário da República*, nº **192**, I Série, 2 de Outubro 2009, pp 7154-7165.
- De Vetter, L., Depraetere, G., Janssen, C., Stevens, M., Van Acker, J., (2008) Methodology to assess both the efficacy and ecotoxicology of preservative treated and modified wood. *Annals of Forest Science*, **65**, 504, <http://dx.doi.org/10.1051/forest:2008030>
- Dhal, B., Thatoi, H.N., Das, N.N., Pandey, B.D. (2013) Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review. *Journal of Hazardous Materials*, **250-251**, 272-291.
- Directiva 86/278/CEE do Conselho de 12 de Junho de 1986 relativa à protecção do ambiente, e em especial dos solos, na utilização agrícola de lamas de depuração.
- Domingues, H.L.B.R.C. (1999) Comportamento de metais pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) em Solos tratados com lamas residuais urbanas. Dissertação de Doutoramento, FCT/UNL, Lisboa, 280 p.

- Duffus, J. (2002) "HEAVY METALS" – A MEANINGLESS TERM? (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry, **74** (5), 5793-807.
- Dushenkov, D. (2003) Trends in phytoremediation of radionuclides. Plant and Soil, **249**, 167-175.
- Dushenkov, V., Kumar, N., Motto, H., Raskin, I. (1995) Rhizofiltration: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Aqueous Streams. Environmental Science Technology, **29**, 1239-1245.
- Dyckhoff, C., Halliwell, L., Haynes, R. e Watts, S. (1996) Sampling. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds), Essential Environmental Science, Methods & Techniques, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 31-66.
- Eapen, S., Dsouza, S. (2005) Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. Biotechnology Advances, **23**, 97-114.
- El Bassam, N. (1998) *Energy plant species*. James & James (Science Publishers) Ltd, Londres, Reino Unido, 321 p.
- El Bassam, N. (2010). *Handbook of Bioenergy crops - A complete reference to species, development and applications*. Londres, Reino Unido: Earthscan, Ltd., 516 p.
- EN 12457-4 (2002). Characterization of Waste-Leaching-Compliance Test for Leaching of Granular Waste Materials and Sludges – Part 326 4: One Stage Batch Test at a Liquid to Solid Ratio of 10 L/kg for Materials with Particle Size below 10 mm (without or with Size Reduction). European Committee for Standardization, Bruxelas, Bélgica.
- EPA (2000) *Introduction to phytoremediation*. Cincinnati, Ohio, Estados Unidos da América. EPA/600/R-99/107.
- Epelde, L., Mijangos, I., Becerril, J., Garbisu, C. (2009) Soil microbial community as bioindicator of the recovery of soil functioning derived from metal phytoextraction with sorghum. Soil Biology and Biochemistry, **41**, 1788-1794.
- FAO-UNESCO (1974) Soil Map of the World, 1:5000000 v. 1, legend. Paris, Unesco.
- Fazio, S., Monti, A. (2011) Life cycle assessment of different bioenergy production systems including perennial and annual crops. Biomass Bioenergy, **35**, 4868–4878.
- Fergusson, J. (1991) *The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects*, Pergamon Press, Oxford, Reino Unido, 614 p.
- Fernando, A. (2005) *Fitorremediação por Miscanthus x giganteus de solos contaminados com metais pesados*, dissertação de Doutoramento, FCT/UNL, Lisboa, 502 p.

- Fernando, A., Fernandes, J.P.A., Oliveira, J.S. (2001) Comparative Evaluation of European Methods for Sampling and sample Preparation of Soils - The Portuguese Contribution, *Science of the Total Environment*, 264, 181-186.
- Fernando, A., Oliveira, J. (2004a) Fitorremediação de solos contaminados com metais pesados – Mecanismos, vantagens e limitações, *Biologia Vegetal e Agro-Industrial*, 1, 103-114.
- Fernando, A., Oliveira, J.S. (2004b) Effects on Growth, Productivity and Biomass Quality of *Miscanthus x giganteus* of soils contaminated with heavy metals. In: Van Swaaij, W.P.M., Fjällström, T., Helm, P., Grassi, A. (eds) *Biomass for Energy, Industry and Climate Protection - Proceedings of the 2nd World Biomass Conference*, 10-14 Maio 2004, Roma, Itália, ETA-Florence e WIP-Munich, pp 387-390.
- Fernando, A.L., Duarte, M.P., Almeida, J., Boléo, S., di Virgilio N., Mendes, B. (2010a) The influence of crop management in the environmental impact of energy crops production. In: Spitzer, J., Dallemard, J.F., Baxter, D., Ossenbrink, H., Grassi, A., Helm, P. (eds) *Proceedings of the 18th European Biomass Conference and Exhibition, From Research to Industry and Markets*. 3-7 May 2010, Lyon, France, ETA-Renewable Energies and WIP-Renewable Energies, pp 2275-2279
- Fernando, A.L., Duarte, M.P., Almeida, J., Boléo, S., Mendes, B. (2011) Environmental Pros and Cons of Energy Crops Cultivation in Europe. In: Faulstich, M., Ossenbrink, H., Dallemard, J.F., Baxter, D., Grassi, A., Helm, P. (eds) *Proceedings of the 19th European Biomass Conference and Exhibition, From Research to Industry and Markets*. 6-10 June 2011, Berlin, Germany, Organized by ETA-Florence Renewable Energies and WIP-Renewable Energies, published by ETA-Florence Renewable Energies, pp 38-42
- Fernando, A.L., Duarte, M.P., Almeida, J., Boléo, S., Mendes, B. (2010b) Environmental impact assessment of energy crops cultivation in Europe. *Biofuel Bioproducts and Biorefinery*, 4, 594–604.
- Fernando, A.L., Duarte, P., Oliveira, J.S. (1996) Bioremoval of heavy metals from soil by *Miscanthus sinensis giganteus*. In: Chartier, Ph., Ferrero, G. L., Henius, U. M., Hultberg, S., Sachau, J. and Wiinblad, M. (eds) *Biomass for Energy and the Environment - Proceedings of the 9th European Conference*, 24-27 Junho 1996, Copenhaga, Dinamarca. Pergamon Press, Londres, 1, pp 531-536.
- Fernando, A.L., Godovikova, V., Oliveira, J.F.S. (2004) *Miscanthus x giganteus*: Contribution to a Sustainable Agriculture of a Future/Present – Oriented Biomaterial. *Materials Science Forum*, Advanced Materials Forum II, 455-456, 437-441

- Fernando, A.L., Oliveira, J.S. (2001) Some aspects of Environmental Impact Assessment of *Miscanthus x giganteus* production in Portugal – Application of a model. Environmental Aspects of Energy Crops. Latest results and Future direction. 14th November, Moller Centre, Cambridge, UK. Organized by DTI (now BERR, Department for Business, Enterprise and Regulatory Reform), UK: <http://www.berr.gov.uk/files/file20819.pdf> (accessed March 2010).
- Finnan, J., Styles, D. (2013) Hemp: a more sustainable annual energy crop for climate and energy policy. *Energy Policy*, **58**, 152–162.
- Frandsen, P. (1997) Team *Arundo*: Interagency Cooperation to Control Giant Reed Cane (*Arundo donax*). In: James, O. e Thiert, J. (1997) Assessment and Management of Plant Invasions, Nova Iorque, Estados Unidos da América, pp. 244-247.
- Garbisu C, Alkorta, I. (2003) Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. *The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection*, **3**, 58-66.
- Ghetti, P., Ricca, L., Angelini, L. (1996) Thermal analysis of biomass and corresponding pyrolysis products. *Fuel*, **75**, 565-573.
- Ghosh, M., Singh, S. (2005a) A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. *Environmental Pollution*, **133**, 365-371.
- Ghosh, M., Singh, S. (2005b) A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research*, **3**, 1-18.
- Giaccio, L., Cicchella, D., Vivo, B., Lombardi, G., Rosa, M. (2011) Does heavy metals pollution affects semen quality in men? A case of study in the metropolitan area of Naples (Italy). *Journal of Geochemical Exploration*, **112**, 218-225.
- Gisbert, C., Ros, R., Haro, A., Walker, D., Bernal, M., Serrano, R., Avino, J. (2003) A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **303**, 440-445.
- Global Invasive Species Information Network (2012) disponível em <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=112&fr=1&sts=>, em Janeiro de 2012.
- Goolsby, J., Moran, P. (2009) Host range of *Tetramesa romana* Walker (Hymenoptera: Eurytomidae), a potential biological control of giant reed, *Arundo donax* L. in North America, *Biological Control*, **49**, 160-168.
- Guo, Z., Miao, X., (2010) Growth changes and tissues anatomical characteristics of giant reed (*Arundo donax* L.) in soil contaminated with arsenic, cadmium and lead. *Journal Central South University Technology*, **17**, 770-777.

- Haigh, M. e Dyckhoff, C. (1996) Soils. In: Watts, S. e Halliwell, L. (eds), Essential Environmental Science, Methods & Techniques, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 261-303.
- Hammer, D., Kayser, A. e Keller, C. (2003) Phytoextraction of Cd and Zn with *Salix viminalis* in field trials. Soil Use and Management, **3**,187-192.
- Han, Z., Hu, X., Hu, Z. (2005) Phytoremediation of mercury and cadmium polluted wetland by *Arundo donax*, Chinese Journal of Applied Ecology, **16**, 945-950.(abstract)
- Han, Z., Hu, Z. (2005) Tolerance of *Arundo donax* to heavy metals. Chinese Journal of Applied Ecology, **16**, 161-165. (abstract)
- He, Z., Yang, X., Stoffella, P. (2005) Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, **19**, 125-140.
- Hidalgo, M., Fernandez, J. (2001) Biomass production of ten populations of giant reed (*Arundo donax* L.) under the environmental conditions of Madrid (Spain). In: Kyritsis, S., Beenackers, M., Helm, P., Grassi, A., Chiaramonti, D. editors (2001) Biomass for Energy and Industry: Proceeding of the First World Conference, Sevilha, Espanha, p. 1881-1884.
- Hinchman, R., Negri, M., e Gatliff, E. (1995) "Phytoremediation: using green plants to clean up contaminated soil, groundwater, and wastewater," Argonne National Laboratory Hinchman, Applied Natural Sciences, Inc, disponível em <http://www.treemediation.com/Technical/Phytoremediation 1998.pdf>.
- Ho, W., Ang, L., Lee, D. (2008) Assessment of Pb uptake, translocation and immobilization in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) for phytoremediation of sand tailings. Journal of Environmental Sciences, **20**, 1341-1347.
- Hoffmann, G., Schingnitz, D., Schnapke, A., Bilitewski, B. (2010) Reduction of CO<sub>2</sub>-emissions by using biomass in combustion and digestion plants. Waste Management, **30**, 893-901.
- Huang, J., Chen, J., Berti, W., Cunningham, S. (1997) Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. Environmental Science Technology, **31**, 800-805.
- IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change (2006) 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme, Eggleston HS, Buendia L, Miwa K, Ngara T, Tanabe K (eds). IGES, Japan.
- Iqbal M., Bermond A., Lamy I. (2013) Impact of *miscanthus* cultivation on trace metal availability in contaminated agricultural soils: Complementary insights from kinetic extraction and physical fractionation. Chemosphere, **91**, 287-294.



- ISO 5663 (1984) *Water quality – Determination of Kjeldahl-nitrogen – Method after mineralization with selenium.*
- ISO 5664 (1984) *Water quality – Determination of ammonium – Distillation and titration method.*
- ISO 5667-3 (1985) *Water quality – Sampling - Part 3: Guidance on the preservation and handling of samples.*
- ISO 5815-1 (2003) *Water quality -- Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD<sub>n</sub>) - Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition*
- ISO 5815-2 (2003) *Water quality -- Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD<sub>n</sub>) - Part 2: Method for undiluted samples*
- ISO 6222 (1999) *Water Quality – Enumeration of culturable micro-organisms – Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium.*
- ISO 6777 (1984) *Water quality – Determination of nitrite – Molecular absorption spectrometric method.*
- ISO 6878-1 (1986) *Water quality – Determination of phosphorus – Part 1: Ammonium molybdate spectrometric method.*
- ISO 7888 (1985) *Water quality – Determination of electrical conductivity.*
- ISO 7980 (1986) *Water quality – Determination of calcium and magnesium – Atomic absorption spectrometric method.*
- ISO 8288 (1986) *Water quality – Determination of cobalt, nickel, copper, zinc, cadmium and lead – Flame atomic absorption spectrometric methods.*
- ISO 8467 (1993) *Water quality – Determination of permanganate index.*
- ISO 9174 (1990) *Water quality – Determination of total chromium – Atomic absorption spectrometric methods.*
- ISO 9964 (1993) *Water quality – Determination of sodium and potassium.*
- ISO 10694 (1995) *Soil Quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion (elementary analysis).*
- ISO 11466 (1995) *Soil Quality – Extraction of trace metals soluble in aqua regia.*
- ISO 16072 (2002) *Soil quality - Laboratory methods for determination of microbial soil respiration.*

- Jabeen, R., Ahmad, A., Iqbal, M. (2009) Phytoremediation of Heavy Metals: Physiological and Molecular Mechanisms. *Bot. Rev.*, **75**, 339-364.
- James, B. (2001) Remediation - by - reduction strategies for chromate-contaminated soils. *Environmental Geochemistry and Health*, **23**, 175-179.
- Jenkins, P., Southern, T., Truesdale, V., e Jeary, A. (1996) Waters. In: Watts, S. and Halliwell, L. (eds). *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 305-350.
- Kabata-Pendias, A. (2011) *Trace elements in Soils and Plantas*, 4<sup>a</sup> edição, CRC Press, INc., Boca Raton, Florida, EUA, 534 p.
- Kausar, S., Mahmood, Q., Raja, I., Khan, A., Sultan, S., Gilani, M., Shujaat, S. (2012) Potential of *Arundo donax* to treat chromium contamination. *Ecological Engineering*, **42**, 256-259.
- Khelifi, R., Chaffai, A. (2010) Head and neck cancer due to heavy metal exposure via tobacco smoking and Professional exposure: A review. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **248**, 71-88.
- Klang-Westin, E., Perttu, K. (2002) Effects of nutrient supply and soil cadmium concentration on cadmium removal by willow. *Biomass and Bioenergy*, **23**, 415-426.
- Klang-Westin, E., Perttu, K. (2002) Effects of nutrient supply and soil cadmium concentration on cadmium removal by willow. *Biomass and Bioenergy*, **23**, 415-426.
- Kumar, G., Yadav, S., Thawale, P., Singh, S., Juwarkar, A. (2008) Growth of *Jatropha curcas* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and *Azotobacter* – A greenhouse study. *Bioresource Technology*, **99**, 2078-2082.
- Kumar, P., Dushenkov, V., Motto, H., Raskin, I. (1995) Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science and Technology*, **29**, 1232-1238.
- Kassam, A., Friedrich, T., Derpsch, R., Lahmar, R., Mrabet, R., Basch, G., Gonz  le-Sánchez, E., Serraj, R. (2012) Conservation agriculture in the dry Mediterranean climate. *Field Crops Research*, **132**, 7-17.
- Laraus, J. (2004) The problems of sustainable water use in the Mediterranean and research requirements for agriculture. *Annual Applied Biology*, **144**, 259–272.
- Lázaro, D., Kidd, P., Monterroso, M. (2006) A phytogeochemical study of the Tr  s-os-Montes region (NE Portugal): possible species for plant-based soil remediation technologies. *Science of the Total Environment*, **354**, 265-277.

- Lewandowski, I., Schmidt, U., Londo, M., Faaij, A. (2006) The economic value of the phytoremediation function – Assessed by the example of cadmium remediation by willow (*Salix* spp). *Agricultural Systems*, **89**, 68-89.
- Lewandowski, I., Scurlock, M.O.J., Lindvall, E., Christou, M. (2003) The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and Bioenergy*, **25**, 335–361.
- Lewis, M., Pryor, R., Wilking, L. (2011) Fate and effects of anthropogenic chemicals in mangrove ecosystems: A review. *Environmental Pollution*, **159**, 2328-2346.
- Lievens, C., Yperman, J., Vangronsveld, Carleer, R. (2008,a) Study of the potential valorization of heavy metal contaminated biomass via phytoremediation by fast pyrolysis: Part I. Influence of temperature, biomass species and solid heat carrier on the behavior of heavy metals. *Fuel*, **87**, 1894-1905.
- Lievens, C., Yperman, J., Vangronsveld, Carleer, R. (2008,b) Study of the potential valorization of heavy metal contaminated biomass via phytoremediation by fast pyrolysis: Part II. Characterization of the liquid and gaseous fraction as a function of the temperature. *Fuel*, **87**, 1906-1916.
- Linger, P., Müssig, J., Fischer, H., Kobert, J. (2002) Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) growing on heavy metal contaminated soil: fibre quality and phytoremediation potential. *Industrial Crops and Products*, **16**, 33-42.
- Liphadzi, M., Kirkham, M., Mankin, K., Paulsen, G. (2003) EDTA-assisted heavy-metal uptake by poplar and sunflower grown at a long-term sewage-sludge farm. *Plant and Soil*, **257**, 171-182.
- Lombi, E., Zhao, F., Dunham, S., McGrath, S. (2001) Phytoremediation of heavy metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction. *Journal of Environmental Quality*, **30**, 1919-1926.
- Long, X., Yang, X., Ni, W. (2002) Current status and perspective on phytoremediation of heavy metal polluted soils. *Journal of Applied Ecology*, **13**, 757-762.
- Low, T., Booth, C., Sheppard, A. (2011) Weedy biofuels: what can be done? *Current Opinion in Environmental Sustainability*, **3**, 55-59.
- Mantineo, M., D'Agosta, Copani, V., Patanè, C., Cosentino, S. (2009) Biomass yield and energy balance of three perennial crops for energy use in the semi-arid Mediterranean environment. *Field Crops Research*, **114**, 204-213.

- Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P., Zerbi, G. (2004) Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environmental Pollution*, **132**, 21-27.
- Marchiol, L., Fellet, G., Perosa, D., Zerbi, G. (2007) Removal of trace metals by *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in a site polluted by industrial wastes: A field experience. *Plant Physiology and Biochemistry*, **45**, 379-387.
- Mariani, C., Cabrini, R., Danin, A., Piffanelli, P., Fricano, A., Gomarasca, S., Dicandilo, M., Grassi, F., Soave, C. (2010) Origin, diffusion and reproduction of the giant reed (*Arundo donax* L.): a promising weedy energy crop. *Annals of Applied Biology*, **157**, 191-202.
- Mavrogianopoulos, G., Vogli, V., Kyritsis, S. (2002) Use of wastewaters as a nutrient solution in a closed gravel hydroponic cultures of giant reed (*Arundo donax*). *Bioresource Technology*, **82**, 103-107.
- McClintock, T., Chen, Y., Bundschun, J., Oliver, J., Navoni, J., Olmos, V., Lepori, E., Ahsan, H., Parvez, F. (2011) Arsenic exposure in Latin America: Biomarkers, risk assessments and related health effects. *Science of the Total Environment*, 16 p.
- McIntyre, T. (2003) Phytoremediation of heavy metals from soils. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, **78**, 97-123.
- Meers, E., Ruttens, A., Hopgood, M., Lesage, E., Tack, F. (2005) Potential of *Brassica rapa*, *Cannabis sativa*, *Helianthus annuus* and *Zea mays* for phytoextraction of heavy metals from calcareous dredged sediment derived soils. *Chemosphere*, **61**, 561-572.
- Meers, E., Slycken, S., Adriaensen, K., Ruttens, A., Vangronsveld, J., Laing, G. (2010) The use of bio-energy crops (*Zea mays*) for 'phytoattenuation' of heavy metals on moderately contaminated soils: A field experiment. *Chemosphere*, **78**, 35-41.
- Meers, E., Vandecasteele, B., Ruttens, A., Vangronsveld, J., Tack, F. (2007) Potential of five willow species (*Salix* spp.) for phytoremediation of heavy metals. *Environmental and Experimental Botany*, **60**, 57-68.
- Miao, Y., Xi-yuan, X., Xu-feng, M., Zhao-hui, G., Feng-yong, W. (2012) Effects of amendments on growth and metal uptake of giant reed (*Arundo donax* L.) grown on soil contaminated by arsenic, cadmium and lead. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, **22**, 1462-1469.
- Mirza, N., Mahmood, Q., Pervez, A., Ahmad, R., Farooq, R., Shah, M.M., Azim, M.R. (2010) Phytoremediation potencial of *Arundo donax* in arsenic-contaminated synthetic wastewater. *Bioresource Technology*, **101**, 5815-5819.

- Mirza, N., Pervez, A., Mahmood, Q., Shah, M., Shafqat, M. (2011) Ecological restoration of arsenic contaminated soil by *Arundo donax* L. *Ecological Engineering*, **37**, 1949-1956.
- Mitchell, R.B, Moser, L.E., Moore, K.J., Redfearn, D.D. (1998) Tiller Demographics and Leaf Area Index of Four Perennial Pasture Grasses. *Agronomy and Horticulture*, Faculty Publications, Paper **69**. <http://digitalcommons.unl.edu/agronomyfacpub/69>
- Mleczek, M., Łukaszewski, M., Kaczmarek, Z., Rissmann, I. e Golinski, P. (2009) Efficiency of selected heavy metals accumulation by *Salix viminalis* roots. *Environmental and Experimental Botany*, **65**, 48-53.
- Mleczek, M., Rutkowski, P., Rissmann, I., Kaczmarek, Z., Golinski, P., Szentner, K., Stażyńska, K., Stachowiak, A. (2010) Biomass productivity and phytoremediation potential of *Salix alba* and *Salix viminalis*. *Biomass and Bioenergy*, **34**, 1410-1418.
- Mohan, D., Charles, U., Pittman, J. (2007). Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents - a critical review. *Journal of Hazardous Materials*, **142**, 1-53.
- Monti, A., Zatta, A. (2009) Root distribution and soil moisture retrieval in perennial and annual energy crops in Northern Italy. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **113**, 252-259.
- Mudhal, V., Madaan, N., Mudhal, A. (2010) Heavy metals in plants: phytoremediation: plants used to remediate heavy metal pollution. *Agriculture and Biology Journal of North America*, **1** (1), 40-46.
- Mulligan, C., Yong, R., Gibbs, B. (2001) Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, **60**, 193-207.
- Nackley, L., Vogt, K.A., Kim, S. (2014) *Arundo donax* water use and photosynthetic responses to drought and elevated CO<sub>2</sub>. *Agricultural Water Management*, **136**, 13-22.
- Nasso, N., Angelini, L., Bonari, E. (2010) Influence of fertilization and harvest time on fuel quality of giant reed (*Arundo donax* L.) in central Italy. *European Journal of Agronomy*, **32**, 219-227.
- Norton-Brandão, D., Scherrenberg, S.M., van Lier, J.B. (2013) Reclamation of used urban waters for irrigation purposes – A review of treatment technologies. *Journal of Environmental Management*, **122**, 85-98.
- NP 84 (1965) *Solos. Determinação do teor de água*. 2p.
- NP EN 12176 (2000) *Caracterização das lamas. Determinação do valor do pH*. 12 p.
- Odero, D., Vollmer, K., Rainbolt, Ferrel, J. (2011) Giant Reed (*Arundo donax*): Biology, Identification, and Management. SSR AGR 301. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu>.

- Odjegba, V., Fasidi, I. (2004) Accumulation of trace elements by *Pistia stratiotes*: implications for phytoremediation. *Ecotoxicology*, **13**, 637-646.
- Oliveira, J.S, Duarte, M.P., Christian, D.G., Eppel-Hotz, A., Fernando, A.L. (2001) Environmental aspects of *Miscanthus* production. In: Jones, M.B and Walsh, M. (eds.), *Miscanthus for energy and fibre*. James & James (Science Publishers) Ltd, Londres, Reino Unido, 192 p., pp 172-178.
- Olsen, S., Cole, C., Watanabe, F., Dean, L. (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United States Department of Agriculture (USDA) Circular 939. U.S. Government Printing Office, Washington D.C., EUA.
- Ostonen, I., Püttsepp, Ü., Biel, C., Alberton, O., Bakker, M.R., Löhmus, K., Majdi, H., Metcalfe, D., Olsthoorn, A.F.M., Pronk, A., Vanguelova, E., Weith, M., Brunner, I. (2007) Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems*, (141), **3**, 426-442.
- Padmavathiamma, P., Loretta, Y. (2007) Phytoremediation Technology: hyper-accumulation metals in plants. *Water, Air and Soil Pollution*, **184**, 105-126.
- Palintest Ltd (sem data) Palintest® test instructions. Palintest Ltd, Reino Unido.
- Pan, K., Wang, W. (2011) Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Science of the Total Environment*, 14 p.
- Papazoglou, E. (2007) *Arundo donax* L. stress tolerance under irrigation with heavy metals aqueous solutions. *Desalination*, **211**, 304–313.
- Papazoglou, E. (2011) Responses of *Cynara cardunculus* L. to single and combined cadmium and nickel treatment conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **74**, 195-202.
- Papazoglou, E., Karantounias, G., Vemmos, S., Bouranis, D. (2005) Photosynthesis and growth responses of giant reed (*Arundo donax* L.) to the heavy metals Cd and Ni. *Environmental International*, **31**, 243-249.
- Papazoglou, E., Konstantinos, G., Bouranis, D. (2007) Impact of high cadmium and nickel soil concentration on selected physiological parameters of *Arundo donax* L. *Soil Biology*, **43**, 207-215.
- Papazoglou, E. (2014) Phytoremediation potentials of lignocellulosic crops. FIBRA Summer School, Lignocellulosic Crops as Feedstock for Future Biorefineries, Lisbon, 26-31 July 2014.
- Perdue, R. (1958) *Arundo donax* – source of musical reeds and industrial cellulose. *Economic Botany*, **12**, 368-404.

- Picco, D. (2010) Colture energetiche per il disinquinamento della laguna di Venezia, Veneto Agricoltura Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale e Agroalimentare, Legnaro, Italia. 148 p.
- Pierzynski, G., Sims, J., Vance, G. (2000) Soils and Environmental Quality. In: Varennes, A. (2003) Produtividade de solos e ambiente, Escolar Editora, Lisboa, Portugal, 490 p.
- Pilu, R., Bucci, A., Badone, F., Landoni, M. (2012) Giant reed (*Arundo donax* L.): A weed plant or a promising energy crop? African Journal of Biotechnology, 11 (38), 9163-9174.
- Pimentel, D., Pimentel, M. (2006) Global environmental resources versus world population growth. Ecologic Economics, 59, 195-198.
- Pivetz, B. (2001) Ground Water Issue, Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites, EPA/540/S-01/500. Disponível em [http://www.clu-in.org/download/remed/epa\\_540\\_s01\\_500.pdf](http://www.clu-in.org/download/remed/epa_540_s01_500.pdf)
- Portaria 177/96 (1996) Regras sobre a análise das lamas destinadas à agricultura e dos solos receptores, Diário da República nº 230, II Série, 3 de Outubro de 1996, pp 13790.
- Prasad, M. (2003) Metal hyperaccumulators in plants-Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology, 6, 276-312.
- Prasad, M. (2004) *Heavy Metal Stress in Plants, From Biomolecules to Ecosystems*, Springer, 2ª Edição, Hyderabad, Índia, 462 p.
- Prasad, M. (2014) Utilization of contaminated substrates for boosting bioeconomy: A cascading approach. 19ª International Conference for Renewable Resources and Plant Biotechnology, NAROSSA, Proceedings, June 16-17, Poznań, Poland.
- Pueyo M., López-Sánchez JF, Rauret G. (2004) Assessment of  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated soils. Analytica Chimica Acta, 504, 217-226.
- Pulford, I., Watson, C. (2003) Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees — a review. Environmental International, 29, 529-540.
- Quaghebeur, M., Rengel, Z. (2005) Review: arsenic speciation governs arsenic uptake and transport in terrestrial plants. Microchimica Acta, 151 (3-5), 141-152.
- Radwan, M., Salama, A. (2006) Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. Food and Chemical Toxicology, 44, 1273-1278.
- Rajkumar, M., Freitas, H. (2008) Influence of metal resistant-plant growth-promoting bacteria on the growth of *Ricinus communis* in soil contaminated with heavy metals, Chemosphere, 71, 834-842.

- Raskin, I., Kumar, P., Dushenkov, S., Salt, D. (1994) Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology*, **5** (3), 285-290.
- Richardson, D.M., Blanchard, R. (2011) Learning from our mistakes: minimizing problems with invasive biofuel plants. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, **3**, 36-42.
- Río, M., Font, R., Almela, C., Vélez, D., Montoro, R., Bailón, A. (2002) Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadiamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *Journal of Biotechnology*, **98**, 125-137.
- Ross, D. S., Ketterings, Q. (2011). Recommended Methods for Determining Soil Cation Exchange Capacity – Chapter 9. Recommended Soil Testing Procedures for the Northeastern United States. Cooperative Bulletin No. 493. Disponível em <http://extension.udel.edu/lawngarden/files/2012/10/CHAP9.pdf>. Consultado em Agosto de 2014.
- Rowell, D. (1994) *Soil Science Methods & Applications*, Addison Wesley Longman Limited, Edinburgo, Reino Unido, 345 p.
- Ruan, X., Zhang, G., Ni, L., He, Y. (2008) Distribution and Migration of Heavy Metals in Undisturbed Forests Soils: A High Resolution Sampling Method. *Pedosphere*, **18** (3), 386-393.
- Rugh, C., Wilde, H., Stacks, N., Thompson, D., Summers, A., Meagher, R. (1996) Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial merA gene. *Proceedings of the National Academy of Science*, **93**, 3182-3187.
- Salt, D., Blaylock, M., Kumar, P., Dushenkov, V., Ensley, B., Chet, L., Raskin, L. (1995) Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, **13**, 468-474.
- Santala, K., Ryser, P. (2009) Influence of heavy-metal contamination on plant response to water availability in white birch, *Betula papyrifera*. *Environmental and Experimental Botany*, **66**, 334-340.
- Schnoor, L., Light, S., McCutcheon, N., Wolfe, L., Carreira, L. (1995) Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environmental Science Technology*, **29**, 318-323.
- Schollenberg, C., Drebelbis, F. (1933) Analytical methods in base exchange investigations of soils. *Soil Science*, **30**, 161-173.
- Scordia, D., Cosentino, S.L., Lee, J., Jeffries, T.W. (2011) Dilute oxalic acid pretreatment for biorefining giant reed (*Arundo donax* L.) Biomass and Bioenergy, **35**, 3018-3024.



- Scordia, D., Cosentino, S.L., Lee, J., Jeffries, T.W. (2012) Bioconversion of giant reed (*Arundo donax* L.) hemicellulose hydrolysate to ethanol by *Scheffersomyces stipites* CBS6054. *Biomass and Bioenergy*, **39**, 296-305.
- Shatalov, A, Pereira, H. (2002) Influence of stem morphology on pulp and paper properties of *Arundo donax* L reed. *Industrial Crops and Products*, **15**, 77-83.
- Shatalov, A.A., Pereira, H. (2005) Kinetics of organosolv delignification of fiber crop *Arundo donax* L. *Industrial Crops and Products*, **21**, 203-210.
- Shi, G., Cai, Q. (2009) Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops. *Biotechnology Advances*, **27**, 555-561.
- TECNINVEST (2005) Estudo de Impacto Ambiental CIRVER SISAV, RESUMO NÃO TÉCNICO, Estudo Nº 2499 A, Exemplar Nº 1.
- Tripathi, R., Srivastava, S., Mishra, S., Singh, N., Tuli, R., Gupta, D., Maathuis, F., (2007) Review: arsenic hazards: strategies for tolerance and remediation by plants. *Trends in Biotechnology*, **4**, 158-165.
- Tzanakakis, V., Paranychianakis, N., Angelakis, A. (2009) Nutrient removal and biomass production in land treatment systems receiving domestic effluent. *Ecological Engineering*, **35**, 1485-1492.
- TRAMES (1996) *Trace metal and phosphate extraction from sediments and soils*, European Commission, SM&T Programme, Contrato SMT4 CT96-2087, Bruxelas, Bélgica.
- URL: EURSOILS <http://eusoils.jrc.ec.europa.eu/foregshmc/>, consultado em Novembro de 2011
- URL NATURE.COM: <http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/what-are-soils-67647639>; consultado em Agosto de 2014.
- URL: <http://invasoras.uc.pt/gallery/arundo-donax/>; consultado em Agosto de 2014.
- URL DISCOVERLIFE.COM:  
[http://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Arundo+donax&guide=North\\_American\\_Invasive\\_s&flags=HAS](http://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Arundo+donax&guide=North_American_Invasive_s&flags=HAS); consulado em Agosto de 2014.
- URL: [IUCIDCENTRAL.ORG:](http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/eafrinet/maize_pests/key/maize_pests/Media/Html/Sesamia_calamistis_Hampson_1910_-_African_Pink_Stalkborer.htm)  
[http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/eafrinet/maize\\_pests/key/maize\\_pests/Media/Html/Sesamia\\_calamistis\\_Hampson\\_1910 - African Pink Stalkborer.htm](http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/eafrinet/maize_pests/key/maize_pests/Media/Html/Sesamia_calamistis_Hampson_1910_-_African_Pink_Stalkborer.htm);consultado em Agosto de 2014
- URL EENEWS.NET: <http://www.eenews.net/stories/1059966408>; consultado em Agosto de 2014.
- URL VIDEO YOUTUBE ARUNDO DONAX L:

[https://www.youtube.com/watch?v=CJ82BydGf\\_A](https://www.youtube.com/watch?v=CJ82BydGf_A); consultado em Agosto de 2014.

URL CTIC Alcanena: [www.ctic.pt](http://www.ctic.pt); consultado em Abril de 2014.

URL USDA (2012): <http://www.ars.usda.gov/is/AR/archive/nov01/water1101.htm>, consultado em Janeiro de 2012

Vandecasteele, C., Block, C. (1993) *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons, Chichester, Reino Unido, 330 p.

Vanek, T., Soudek, P., Tykva, R., Vankova, R. (2006) Accumulation of radioiodine from aqueous solution by hydroponically cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Environmental and Experimental Botany*, **57**, 220–225.

Varennnes, A. (2003) *Produtividade de solos e ambiente*, Escolar Editora, Lisboa, Portugal, 490 p.

Vassilev, S.V., Baxter, D., Andersen, L.K., Vassileva, C.G., Morgan, T.J. (2010) An overview of the chemical composition of biomass. *Fuel*, **89**, 913-933.

Vassilev, S.V., Baxter, D., Andersen, L.K., Vassileva, C.G., Morgan, T.J. (2012) An overview of the organic and inorganic phase composition of biomass. *Fuel*, **94**, 1-33.

Venturi, G., Monti, A. (2005) Energia da colture dedicate: aspetti ambientali ed agronomici. *Conferenza Nazionale sulla Politica Energetica in Italia. Bologna 18-19 aprile 2005*, disponível em [www.tecnosophia.org/documenti/2005\\_04\\_conferenza\\_energia\\_bologna.htm](http://www.tecnosophia.org/documenti/2005_04_conferenza_energia_bologna.htm)

Videa, J., Lopez, M., Narayan, M., Saupe, G., Torresdey, J. (2009) The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **41**, 1665-1677.

Walkley, A., Black, I. (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, **34**, 29-38.

Watanabe, F.S., Olsen, S.R. (1965) Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO<sub>3</sub> extracts from the soil. *Soil Science Society of America*, **29**, 677-78.

Watts, S. e Halliwell, L. (1996) Appendix 3 – Detailed field and chemical methods for soil. In: Watts, S. e Halliwell, L. (eds), *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*, Routledge, Londres, Reino Unido, pp 475-505.

Watts, D.A., Moore, G.W. (2011) Water-Use Dynamics of an Invasive Reed, *Arundo donax*, from Leadf to Stand. *Wetlands*, DOI 10.1007/s13157-011-0188-1

- WHO (1993a) Guidelines for Drinking-water Quality, 2nd ed, vol.1, Recommendations, Geneva:[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq2v1/en/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq2v1/en/index.html)
- WHO (1993b). Guidelines for Drinking Water Quality. World Health Organisation, Geneva, p. 41.
- Yadav, S., Juwarkar, A., Kumar, G., Thawale, P., Singh, S., Chakrabarti, T. (2009) Bioaccumulation and phyto-translocation of arsenic, chromium and zinc by *Jatropha curcas* L.: Impact of dairy sludge and biofertilizer. Bioresource Technology, **100**, 4616-4622.
- Yang, X., Baligar, V., Martens, D., Clarck, R. (1996) Plant tolerance to Ni toxicity. I. Influx, transport and accumulation of Ni in four species. Journal of Plant Nutrition, **19** (1), 73-85.
- Yang, X., Feng, Y., He, Z., Stoffella, P. (2005) Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, **18**, 339–353.
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., Ma, L. (2006) Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. Science of the Total Environment, **368**, 456-464.
- Zayed, A., Gowthaman, S., Terry, N. (1998) Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. Journal of Environment Quality, **27**, 715-721.
- Zhang, Y., Li, Y., Jiang, L., Tian, C., Li, J., Xiao, Z. (2011) Potential of Perennial Crop on Environmental Sustainability of Agriculture. Procedia, Environmental Sciences, **10**, 1141-1147.
- Zegada-Lizarazu, W., Monti, A. (2011) Energy crops in rotation. A review. Biomass Bioenergy **35**, 12–25.
- Zhu, Y., Rosen, B. (2009) Perspectives for genetic engineering for the phytoremediation of arsenic-contaminated environments: from imagination to reality? Current Opinion Biotechnology, **20**, 220-224.
- Zhuang, P., Shu, W., Zhian, L., Liao, B., Jintian, L., Shao, J. (2009) Removal of metals by sorghum plants from contaminated land. Journal of Environmental Sciences, **21**, 1432-1437.
- Zoche, J., Leffa, D., Damiani, A., Carvalho, F., Mendonça, R., Santos, C., Bouffleur, L., Dias, J., Andrade, V. (2010) Heavy metals and DNA damage in blood cells of insectivore bats in coal mining areas of Catarinense coal basin, Brazil. Environmental Research, **110**, 684-691.